

Système d'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

API 20 NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non enterobactéries et non fastidieux (ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.) combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation, et une base de données. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le Tableau d'identification en fin de notice.

PRINCIPE

La galerie API 20 NE comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés.

Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

PRESENTATION (coffret de 25 tests)

- 25 galeries API 20 NE
- 25 boîtes d'incubation
- 25 ampoules d'API AUX Medium
- 25 fiches de résultats
- 1 notice

COMPOSITION

Galerie

La composition de la galerie API 20 NE est reportée dans le tableau de lecture de cette notice.

Milieu

API AUX Medium 7 ml	Sulfate d'ammonium	2 g
	Agar	1,5 g
	Solution de vitamines	10,5 ml
	Solution d'oligo-éléments	10 ml
	Phosphate monosodique	6,24 g
	Chlorure de potassium	1,5 g
	Eau déminéralisée	qsp 1000 ml
	pH final : 7,0-7,2	

REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Réactifs

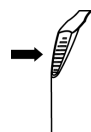
- API NaCl 0,85 % Medium, 2 ml (Réf. 20 070)
- Réactifs : JAMES (Réf. 70 542)
NIT 1 + NIT 2 (Réf. 70 442)
Zn (Réf. 70 380)
- Oxydase (Réf. 55 635*)
* référence non commercialisée dans certains pays :
utiliser un réactif équivalent.
- Huile de paraffine (Réf. 70 100)
- McFarland Standard (Réf. 70 900) point 0,5
- Catalogue Analytique API 20 NE (Réf. 20 090) ou
logiciel d'identification **apiweb™** (Réf. 40 011)
(consulter bioMérieux)

Matériel

- Pipettes ou PSipettes
- Protège-ampoule
- Portoir pour ampoules
- Equipement général de laboratoire de bactériologie

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- **Pour diagnostic *in vitro* et pour contrôle microbiologique.**
- **Pour usage professionnel uniquement.**
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer; ne pas inhaler).
- Les prélèvements, cultures bactériennes et produits ensemencés doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation ; se référer à "CLSI M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Révision en vigueur". Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Dernière édition", ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Avant utilisation, s'assurer de l'intégrité de l'emballage et des composants.
- Ne pas utiliser de galeries ayant subi une altération physique : cupule déformée, ...
- Ouvrir les ampoules délicatement comme suit :
 - Placer l'ampoule dans le protège-ampoule.
 - Tenir l'ensemble verticalement dans une main (bouchon blanc vers le haut).
 - Bien enfoncer le bouchon.
 - Exercer une pression horizontale avec le pouce sur la partie striée du bouchon de façon à casser l'extrémité de l'ampoule.
 - Retirer l'ampoule du protège-ampoule et conserver le protège-ampoule pour une utilisation ultérieure.
 - Enlever délicatement le bouchon.
- Les performances présentées sont obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut altérer les résultats.
- L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique ou autre, de l'origine du prélèvement, des aspects macro et microscopiques de la souche et éventuellement des résultats d'autres tests, en particulier de l'antibiogramme.



CONDITIONS DE STOCKAGE

Les galeries et milieux se conservent à 2-8°C jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage.

ECHANTILLONS (PRELEVEMENT ET PREPARATION)

API 20 NE ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements cliniques ou autres.

Les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté (ex. gélose TrypCase Soja) selon les techniques usuelles de bactériologie.

MODE OPERATOIRE

Test Oxydase

Le test oxydase doit être réalisé selon les instructions du fabricant, il constitue le 21^{ème} test d'identification à noter sur la fiche de résultats.

Sélection des colonies

API 20 NE doit être utilisé avec des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux.

NOTE 1 : certaines espèces de bacilles à Gram négatif non entérobactéries qui sont oxydase négative (*S. maltophilia*, *Acinetobacter*...) sont parfaitement identifiées avec API 20 NE. On s'aidera du contexte clinique ou bactériologique pour utiliser cette galerie.

NOTE 2 : Les microorganismes fastidieux, exigeants et nécessitant des précautions de manipulation particulières (ex. *Brucella* et *Francisella*) ne font pas partie de la base de données API 20 NE. Il convient d'utiliser d'autres techniques pour exclure ou confirmer leur présence.

Préparation de la galerie

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation).
- Sortir la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule d'API NaCl 0,85 % Medium (2 ml) comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" de la notice du produit ou utiliser un tube contenant 2 ml de solution saline à 0,85 %, sans additif.
- A l'aide d'une pipette ou d'une PSlpette, prélever 1 à 4 colonies de morphologie identique, par aspirations ou par touches successives. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures).
- Réaliser une suspension d'opacité égale à 0,5 de McFarland. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

NOTE : Pour le bon fonctionnement des tests de la galerie API 20 NE, il est très important d'ajuster la densité de l'inoculum au point 0,5 de McFarland. En particulier, une turbidité plus faible conduit à des résultats faussement négatifs. Ne pas toucher les cupules lors des manipulations et veiller à ne pas laisser la galerie exposée à l'air longtemps après inoculation.

Inoculation de la galerie

- Remplir les tubes (et non les cupules) des tests NO₃ à PNPg avec la suspension précédente en utilisant la pipette ayant servi au prélèvement. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette ou de la PSlpette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.
- Ouvrir une ampoule d'API AUX Medium comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" et y transférer environ 200 µl de la suspension précédente. Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.
- Remplir tubes et cupules des tests GLU à PAC en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects.
- Remplir d'huile de paraffine les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) pour former un ménisque convexe.
- Refermer la boîte d'incubation et incubé à 29°C ± 2°C pendant 24 heures (± 2 heures).

LECTURE ET INTERPRETATION

Lecture de la galerie

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.
- Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées (GLU, ADH, URE, ESC, GEL, PNPG).
- La révélation des deux tests NO₃ et TRP doit se faire en mettant les tests d'assimilation à l'abri d'une contamination par l'air ; pour cela, placer le couvercle de la boîte d'incubation au dessus de ces tests, pendant la période de révélation des tests NO₃ et TRP.
- **Test NO₃ :**
 - Ajouter une goutte de réactifs NIT 1 et NIT 2 dans la cupule NO₃.
 - Après 5 mn, une couleur **rouge** indique une réaction **positive**, à noter sur la fiche de résultats.
 - Une réaction négative peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles) ; ajouter 2-3 mg de réactif Zn dans la cupule NO₃.
 - Après 5 mn, une cupule restée **incolor** indique une réaction **positive** à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule devient **rose-rouge**, la réaction est **négative** car les nitrates encore présents dans le tube ont alors été réduits en nitrites par le zinc.

La réaction utilisée pour l'identification de la bactérie est la réduction des nitrates ; elle est positive si l'une ou l'autre des deux réactions précédentes (production de NO₂ ou de N₂) est positive.

La production de N₂ peut cependant être utilisée seule comme test complémentaire dans le Catalogue Analytique.

Test TRP :

Ajouter une goutte de réactif JAMES. Une couleur **rose** diffusant dans toute la cupule indique une réaction **positive**.

• Tests d'assimilation :

Observer la pousse bactérienne. Une cupule **trouble** indique une réaction **positive**.

Des pousses d'intensité intermédiaire peuvent être observées et notées \mp ou \pm .

Une fois cette lecture effectuée, l'identification doit être pratiquée comme indiqué au paragraphe "Interprétation".

Une réincubation est nécessaire dans les cas suivants :

- faible discrimination ;
- profil inacceptable ou profil douteux ;
- si la note suivante est indiquée pour le profil obtenu :

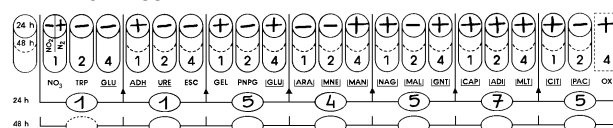
IDENTIFICATION NON VALIDE
AVANT 48 H D'INCUBATION

Alors, éliminer, à l'aide d'une pipette ou d'une PSipette, les réactifs NIT 1, NIT 2 et JAMES par aspiration, recouvrir immédiatement les tests NO₃ et TRP d'huile de paraffine en formant un ménisque convexe, incuber à nouveau à 29°C ± 2°C puis lire 24 h plus tard, sauf les trois premiers tests : NO₃, TRP, GLU qui doivent être lus uniquement à 24 h.

Interprétation

L'identification est obtenue à partir du **profil numérique**.

- Détermination du profil numérique :
Sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres ; la réaction de l'oxydase qui constitue le 21° test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.
- Identification :
Elle est réalisée à partir de la base de données (V7.0)
* à l'aide du Catalogue Analytique :
- Rechercher le profil numérique dans la liste des profils.
* à l'aide du logiciel d'identification **apiweb™** :
- Entrer manuellement au clavier le profil numérique à 7 chiffres.



1 154 575 Pseudomonas aeruginosa

CONTROLE DE QUALITE

Les galeries et milieux font l'objet de contrôles de qualité systématiques aux différentes étapes de leur fabrication.

Le **Contrôle de Qualité Minimum** peut être utilisé pour vérifier que les conditions de stockage et de transports n'ont pas d'impact sur les performances de la galerie API 20 NE. Ce contrôle peut être réalisé en suivant les instructions et critères attendues ci-dessus en lien avec le référentiel CLSI M50-A Quality Control for Commercial Microbial identification Systems.

Comme aucun substrat de la galerie n'est sensible aux conditions de stockage et de transports, le Contrôle de Qualité Minimum peut être réalisé en testant deux souches : **Aeromonas hydrophila ATCC® 35654** qui présente des tests principalement positifs et **Alcaligenes faecalis ATCC 35655**, qui présente des tests principalement négatifs avec API 20 NE.

Dans le cas où un **contrôle de Qualité Complet** est exigé pour cette galerie, les quatre souches suivantes devront être testées pour vérifier les réactions positives et négatives de la plupart des tests de la galerie API 20 NE.

- | | | | |
|--------------------------------|------------|---------------------------------------|------------|
| 1. <i>Aeromonas hydrophila</i> | ATCC 35654 | 3. <i>Sphingobacterium multivorum</i> | ATCC 35656 |
| 2. <i>Alcaligenes faecalis</i> | ATCC 35655 | 4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 |

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX
1.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-*	-	+
2.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
3.	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
4.	+	-	-	V	V	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+

* Des réactions faiblement positives peuvent être observées.

Profils obtenus à partir de colonies cultivées sur gélose Trypcase Soja et après 48 heures d'incubation pour les tests ADH à PAC.

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le contrôle de qualité est mis en oeuvre conformément à la législation locale en vigueur.

LIMITES DU TEST

- Le système API 20 NE est destiné à l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux présents dans la base de données (voir Tableau d'Identification en fin de notice) et à eux seuls. Il ne peut être utilisé pour identifier d'autres micro-organismes ou exclure leur présence.
- Les bacilles à Gram négatif non fermentants, isolés de patients atteints de mucoviscidose, peuvent générer des profils biochimiques atypiques susceptibles d'altérer leur identification.
- Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées.

RESULTATS ATTENDUS

Se référer au Tableau d'Identification en fin de cette notice pour les résultats attendus des différentes réactions biochimiques.

PERFORMANCES

5728 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :

- 92,53 % des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
- 3,13 % des souches n'ont pas été identifiées.
- 4,34 % des souches ont été mal identifiées.

ELIMINATION DES DECHETS

Les ampoules d'API AUX Medium non utilisées peuvent être éliminées comme déchets non dangereux.

Éliminer tous les réactifs utilisés ou non utilisés (autre que les ampoules d'API AUX Medium) ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO ₃	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min	
			réduction des Nitrates en azote	incolore	rose-rouge
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRYPTOPHANE)	Zn / 5 min	
				incolore vert pâle / jaune	rose
GLU	D-glucose	1,92	fermentation (GLUCOSE)	bleu à vert	jaune
ADH	L-arginine	1,92	Arginine DiHydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β-glucosidase) (ESCUline)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-βD- galactopyranoside	0,22	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-βD- Galactopyranosidase)	incolore	jaune
[GLU]	D-glucose	1,56	assimilation (GLUCOSE)	transparence	trouble
[ARA]	L-arabinose	1,4	assimilation (ARABINOSE)	transparence	trouble
[MNE]	D-mannose	1,4	assimilation (MANNOSE)	transparence	trouble
[MAN]	D-mannitol	1,36	assimilation (MANNITOL)	transparence	trouble
[NAG]	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-ACÉTYL-GLUCOSAMINE)	transparence	trouble
[MAL]	D-maltose	1,4	assimilation (MALTOSE)	transparence	trouble
[GNT]	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GLUCONATE)	transparence	trouble
[CAP]	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPRIQUE)	transparence	trouble
[ADI]	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIPIQUE)	transparence	trouble
[MLT]	acide malique	1,56	assimilation (MALIQUE)	transparence	trouble
[CIT]	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CITRATE)	transparence	trouble
[PAC]	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PHÉNYLACÉTIQUE)	transparence	trouble
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale notamment peptone bovine/porcine.

METHODOLOGIE	p. I
TABLEAU D'IDENTIFICATION	p. II
BIBLIOGRAPHIE	p. III
TABLES DES SYMBOLES	p. IV

bioMérieux, le logo bleu, API et **apiweb** sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de ses filiales. ATCC est une marque appartenant à American Type Culture Collection.

Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Imprimé en France



Identification system for non-fastidious, non-enteric Gram-negative rods

SUMMARY AND EXPLANATION

API 20 NE is a standardized system for the identification of non-fastidious, non-enteric Gram-negative rods (e.g. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.), combining 8 conventional tests, 12 assimilation tests and a database. The complete list of those organisms that it is possible to identify with this system is given in the Identification Table at the end of this package insert.

PRINCIPLE

The API 20 NE strip consists of 20 microtubes containing dehydrated substrates.

The conventional tests are inoculated with a saline bacterial suspension which reconstitutes the media. During incubation, metabolism produces color changes that are either spontaneous or revealed by the addition of reagents.

The assimilation tests are inoculated with a minimal medium and the bacteria grow if they are capable of utilizing the corresponding substrate.

The reactions are read according to the Reading Table and the identification is obtained by referring to the Analytical Profile Index or using the identification software.

CONTENT OF THE KIT (Kit for 25 tests)

- 25 API 20 NE strips
- 25 incubation boxes
- 25 ampules of API AUX Medium
- 25 result sheets
- 1 package insert

COMPOSITION

Strip

The composition of the API 20 NE strip is given in the Reading Table of this package insert.

Medium

API AUX Medium 7 ml	Ammonium sulphate	2 g
	Agar	1.5 g
	Vitamin solution	10.5 ml
	Trace elements	10 ml
	Monosodium phosphate	6.24 g
	Potassium chloride	1.5 g
	Demineralized water to make	1000 ml
	Final pH : 7.0-7.2	

REAGENTS AND MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Reagents

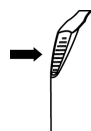
- API NaCl 0.85 % Medium, 2 ml (Ref. 20 070)
- Reagents : JAMES (Ref. 70 542)
NIT 1 + NIT 2 (Ref. 70 442)
Zn (Ref. 70 380)
- Oxidase (Ref. 55 635*)
* reference not sold in certain countries : use an equivalent reagent.
- Mineral oil (Ref. 70 100)
- McFarland Standard (Ref. 70 900) No. 0.5
- API 20 NE Analytical Profile Index (Ref. 20 090) or **apiweb™** identification software (Ref. 40 011) (consult bioMérieux)

Material

- Pipettes or PSipettes
- Ampule protector
- Ampule rack
- General microbiology laboratory equipment

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- **For *in vitro* diagnostic use and microbiological control.**
- **For professional use only.**
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- All specimens, microbial cultures and inoculated products should be considered infectious and handled appropriately. Aseptic technique and usual precautions for handling the bacterial group studied should be observed throughout this procedure. Refer to "CLSI, *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Current revision*". For additional handling precautions, refer to "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Latest edition", or to the regulations currently in use in each country.
- Do not use reagents past the expiry date.
- Before use, check that the packaging and components are intact.
- Do not use strips which have been damaged : cupules deformed, etc.
- Open ampules carefully as follows :
 - Place the ampule in the ampule protector.
 - Hold the protected ampule in one hand in a vertical position (white plastic cap uppermost).
 - Press the cap down as far as possible.
 - Position the thumb tip on the striated part of the cap and press forward to snap off the top of the ampule.
 - Take the ampule out of the ampule protector and put the protector aside for subsequent use.
 - Carefully remove the cap.



- The performance data presented were obtained using the procedure indicated in this package insert. Any change or modification in the procedure may affect the results.
- Interpretation of the test results should be made taking into consideration the patient history, the source of the specimen, colonial and microscopic morphology of the strain and, if necessary, the results of any other tests performed, particularly the antimicrobial susceptibility patterns.

STORAGE CONDITIONS

The strips and media should be stored at 2-8°C until the expiry date indicated on the packaging.

SPECIMENS (COLLECTION AND PREPARATION)

API 20 NE is not for use directly with clinical or other specimens.

The microorganisms to be identified must first be isolated on a suitable culture medium (e.g., Trypticase Soy agar) according to standard microbiological techniques.

INSTRUCTIONS FOR USE

Oxidase test

The oxidase test must be performed according to the manufacturer's instructions for use. The result should be recorded on the result sheet as it is an integral part of the final profile (21st identification test).

Selection of colonies

API 20 NE should only be used with non-fastidious Gram-negative rods which do not belong to the *Enterobacteriaceae*.

NOTE 1 : Some non-enteric Gram-negative rods are oxidase negative (*S. maltophilia*, *Acinetobacter*...). These microorganisms may also be identified with API 20 NE but their selection must be based on other bacteriological or clinical criteria.

NOTE 2 : Fastidious organisms having demanding nutritional requirements and requiring appropriate handling precautions (i.e. *Brucella* and *Francisella*) are not included in the API 20 NE database. Alternative procedures must be used to exclude or confirm their presence.

Preparation of the strip

- Prepare an incubation box, tray and lid, and distribute about 5 ml of distilled water or demineralized water [or any water without additives or chemicals which may release gases (e.g. Cl₂, CO₂, etc.)] into the bottom of the tray to create a humid atmosphere.
- Record the specimen number on the elongated flap of the tray. (Do not record the number on the lid as it may be misplaced during the procedure).
- Remove the strip from its individual packaging.
- Place the strip in the incubation box.

Preparation of the inoculum

- Open an ampule of API NaCl 0.85 % Medium (2 ml) as indicated in the paragraph "Warnings and Precautions" of the package insert for this product, or use any tube containing 2 ml of 0.85 % physiological saline without additives.
- Using a pipette or PSipette, pick up 1-4 colonies of identical morphology from the agar plate, either by suction or by successive touches. It is recommended to use young cultures (18-24 hours old).
- Prepare a suspension with a turbidity equivalent to 0.5 McFarland. This suspension must be used immediately after preparation.

NOTE : It is very important that the density of the inoculum be adjusted to 0.5 McFarland ; the API 20 NE strip tests may otherwise not function correctly. In particular, a weaker inoculum may lead to false negative results. Do not touch the cupules while working with the strip and do not leave the strip exposed to air for a long period of time after inoculation.

Inoculation of the strip

- Inoculate tests NO₃ to PNPG by distributing the saline suspension into the tubes (and not the cupules) using the same pipette. To avoid the formation of bubbles at the base of the tubes, tilt the strip slightly forward and place the tip of the pipette or PSipette against the side of the cupule.
- Open an ampule of API AUX Medium as indicated in the paragraph "Warnings and Precautions" and add approximately 200 µl of the remaining saline suspension to the ampule. Homogenize well with the pipette, avoiding the formation of bubbles.
- Fill the tubes and cupules of tests [GLU] to [PAC] with the suspension. Take care to leave a flat or slightly convex, but not concave, meniscus. Cupules under or overfilled may give incorrect results.
- Add mineral oil to the cupules of the 3 underlined tests (GLU, ADH and URE) until a convex meniscus is formed.
- Close the incubation box and incubate at 29°C ± 2°C for 24 hours (± 2 hours).

READING AND INTERPRETATION

Reading the strip

- After the incubation period, read the strip by referring to the Reading Table.
- Record all spontaneous reactions (GLU, ADH, URE, ESC, GEL and PNPG) on the result sheet.
- The reading of the two tests NO₃ and TRP should be performed while protecting the assimilation tests from airborne contamination. To do this, cover the assimilation tests with the incubation box lid during the reading of the NO₃ and TRP tests.
- **NO₃ test :**
 - Add 1 drop of NIT 1 and 1 drop of NIT 2 reagents to the NO₃ cupule.
 - After 5 minutes, a **red** color indicates a **positive** reaction to be recorded on the result sheet.
 - A negative reaction may be due to the production of nitrogen (indicated by the presence of tiny bubbles) : add 2-3 mg of Zn reagent to the NO₃ cupule.
 - After 5 minutes, a cupule remaining **colorless** indicates a **positive** reaction to be recorded on the result sheet. If the cupule turns **pink-red**, the reaction is **negative** as nitrates were present in the tube and were reduced to nitrite by the zinc.

The reaction used for the identification of the bacterium is the reduction of nitrates. It is positive when either of the above reactions (production of NO₂ or N₂) is positive.

The production of N₂ may, however, be useful alone as a supplementary test (refer to the Analytical Profile Index).

TRP test :

Add 1 drop of JAMES reagent. The reaction takes place immediately : a **pink** color which develops in the whole cupule indicates a **positive** reaction to be recorded on the result sheet.

Assimilation tests :

Observe the bacterial growth. An **opaque** cupule indicates a **positive** reaction.

Occasionally, a cupule may show weak growth. In this case, the results should be recorded as \mp or \pm by comparing the intensity to that of the other tests on the strip.

Once these readings have been made, identification should be possible as indicated in the paragraph "Interpretation".

Reincubation is necessary in the following cases:

- low discrimination ;
- unacceptable or doubtful profile ;
- if the following note is indicated for the profile obtained :

IDENTIFICATION NOT VALID
BEFORE 48-HR INCUBATION

Using a pipette or PSIpette, remove the NIT 1, NIT 2 and JAMES reagents by suction and immediately cover tests NO₃ and TRP with mineral oil so that a convex meniscus is formed. Reincubate the strip at 29°C ± 2°C for a further 24 hours and read all the tests again, except the first 3 (NO₃, TRP and GLU) which should only be read once at 24 hours.

QUALITY CONTROL

The strips and media are systematically quality controlled at various stages of their manufacture.

Streamlined quality control may be used to confirm acceptable performance of the API 20 NE system after shipping/storage. This methodology may be performed by following the instructions above for testing and meeting the criteria stated in CLSI M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

As there are no substrates that are consistently sensitive to degradation during shipping conditions, streamlined quality control may be conducted by testing two strains : **Aeromonas hydrophila ATCC® 35654** that is mostly positive and **Alcaligenes faecalis ATCC 35655**, which is mostly negative for reactions on the API 20 NE system.

For those users who are required to perform **comprehensive quality control** testing with the strip, the following four strains should be tested to demonstrate positive and negative reactivity for most of the API 20 NE tests.

- | | | | |
|--------------------------------|------------|---------------------------------------|------------|
| 1. <i>Aeromonas hydrophila</i> | ATCC 35654 | 3. <i>Sphingobacterium multivorum</i> | ATCC 35656 |
| 2. <i>Alcaligenes faecalis</i> | ATCC 35655 | 4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 |

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX
1.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-*	-	+
2.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
3.	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
4.	+	-	-	V	V	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+

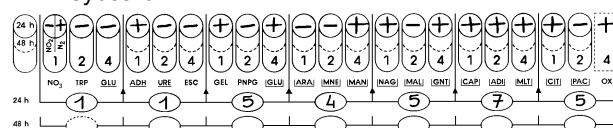
* Weak reactions may occur.

Profiles for tests ADH to PAC obtained after 48 hours of incubation after culture of the colonies on Trypticase Soy agar. It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

Interpretation

Identification is obtained with the **numerical profile**.

- Determination of the numerical profile :
On the result sheet, the tests are separated into groups of 3 and a number 1, 2 or 4 is indicated for each. By adding the values corresponding to positive reactions within each group, a 7-digit number is obtained ; the oxidase reaction constitutes the 21st test and has a value of 4 if it is positive.
- Identification :
This is performed using the database (V7.0)
 - * with the Analytical Profile Index :
-Look up the numerical profile in the list of profiles.
 - * with the **apiweb™** identification software :
-Enter the 7-digit numerical profile manually via the keyboard.



1 154 575 Pseudomonas aeruginosa

LIMITATIONS OF THE METHOD

- The API 20 NE system is intended uniquely for the identification of those non-fastidious, non-enteric Gram-negative rods included in the database (see Identification Table at the end of this package insert). It cannot be used to identify any other microorganisms or to exclude their presence.
- Nonfermentative, Gram-negative rods, isolated from patients with cystic fibrosis, may generate atypical biochemical profiles, which may affect identification.
- Only pure cultures of a single organism should be used.

RANGE OF EXPECTED RESULTS

Consult the Identification Table at the end of this package insert for the range of expected results for the various biochemical reactions.

PERFORMANCE

5728 collection strains and strains of various origins belonging to species included in the database were tested :

- 92.53 % of the strains were correctly identified (with or without supplementary tests).
- 3.13 % of the strains were not identified.
- 4.34 % of the strains were misidentified.

WASTE DISPOSAL

Unused ampoules of API AUX Medium may be considered as non hazardous waste and disposed of accordingly.

Dispose of all used or unused reagents (other than the ampoules of API AUX Medium) as well as any other contaminated disposable materials following procedures for infectious or potentially infectious products.

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their type and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.

READING TABLE

TESTS	ACTIVE INGREDIENTS	QTY (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTS	
				NEGATIVE	POSITIVE
NO ₃	potassium nitrate	0.136	reduction of nitrates to nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min colorless pink-red	
			reduction of nitrates to nitrogen	Zn / 5 min pink colorless	
TRP	L-tryptophane	0.2	indole production (TRyptophane)	JAMES / immediate colorless pale green / yellow pink	
GLU	D-glucose	1.92	fermentation (GLUcose)	blue to green	yellow
ADH	L-arginine	1.92	Arginine DiHydrolase	yellow	orange / pink / red
URE	urea	0.76	UREase	yellow	orange / pink / red
ESC	esculin ferric citrate	0.56 0.072	hydrolysis (β-glucosidase) (ESCulin)	yellow	grey / brown / black
GEL	gelatin (bovine origin)	0.6	hydrolysis (protease) (GELatin)	no pigment diffusion	diffusion of black pigment
PNPG	4-nitrophenyl-βD-galactopyranoside	0.22	β-galactosidase (Para-NitroPhenyl-βD-Galactopyranosidase)	colorless	yellow
[GLU]	D-glucose	1.56	assimilation (GLUcose)	transparent	opaque
[ARA]	L-arabinose	1.4	assimilation (ARAbinose)	transparent	opaque
[MNE]	D-mannose	1.4	assimilation (ManNosE)	transparent	opaque
[MAN]	D-mannitol	1.36	assimilation (MANnitol)	transparent	opaque
[NAG]	N-acetyl-glucosamine	1.28	assimilation (N-Acetyl-Glucosamine)	transparent	opaque
[MAL]	D-maltose	1.4	assimilation (MALtose)	transparent	opaque
[GNT]	potassium gluconate	1.84	assimilation (potassium GlucoNate)	transparent	opaque
[CAP]	capric acid	0.78	assimilation (CAPric acid)	transparent	opaque
[ADI]	adipic acid	1.12	assimilation (ADIPic acid)	transparent	opaque
[MLT]	malic acid	1.56	assimilation (MaLaTe)	transparent	opaque
[CIT]	trisodium citrate	2.28	assimilation (trisodium CITrate)	transparent	opaque
[PAC]	phenylacetic acid	0.8	assimilation (PhenylACetic acid)	transparent	opaque
OX	(see oxidase test package insert)	-	cytochrome oxidase	(see oxidase test package insert)	

- The quantities indicated may be adjusted depending on the titer of the raw materials used.
- Certain cupules contain products of animal origin, notably peptones.

PROCEDURE	p. I
IDENTIFICATION TABLE	p. II
LITERATURE REFERENCES	p. III
INDEX OF SYMBOLS	p. IV

bioMérieux, the blue logo, API and **apiweb** are used, pending and/or registered trademarks belonging to bioMérieux SA or one of its subsidiaries. ATCC is a trademark belonging to American Type Culture Collection. Any other name or trademark is the property of its respective owner.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Printed in France



System zur Identifizierung nicht anspruchsvoller, gramnegativer Stäbchen, die nicht zur Familie der *Enterobacteriaceae* gehören

EINFÜHRUNG UND TESTERKLÄRUNG

API 20 NE ist ein standardisiertes System zur Identifizierung nicht anspruchsvoller, gramnegativer Stäbchen, die nicht zur Familie der *Enterobacteriaceae* gehören (z.B. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas* etc.) anhand von 8 konventionellen Reaktionen, 12 Assimilationsreaktionen und einer Datenbasis. Die komplette Liste der mit dem System identifizierbaren Mikroorganismen finden Sie in der Prozenttabelle am Ende der Arbeitsanleitung.

PRINZIP

Der API 20 NE Streifen besteht aus 20 Mikroröhrchen, die dehydrierte Substrate enthalten.

Die Röhrchen mit den konventionellen Tests werden mit einer Keimsuspension beimpft, welche die Substrate löst. Die Stoffwechselprodukte, die während der Inkubation entstehen, bewirken Farbumschläge, entweder direkt oder nach Zugabe von Reagenzien.

Die Röhrchen für die Assimilationsreaktionen werden mit einem Minimalmedium beimpft. Die Bakterien wachsen nur dann, wenn sie das entsprechende Substrat verwerten können.

Die Ablesung der Reaktionen erfolgt anhand der Ablesetabelle, und die Identifizierung erfolgt mit dem Analytischen Profil Index oder der Identifizierungssoftware.

PACKUNGSGRÖSSE (für 25 Tests)

- 25 API 20 NE Streifen
- 25 Inkubationswannen
- 25 Ampullen API AUX Medium
- 25 Ergebnisblätter
- 1 Arbeitsanleitung

ZUSAMMENSETZUNG

Streifen

Die Zusammensetzung des API 20 NE Streifens finden Sie in der Ablesetabelle dieser Arbeitsanleitung.

Medium

API AUX	Ammoniumsulfat	2 g
Medium	Agar	1,5 g
7 ml	Vitaminlösung	10,5 ml
	Spurenelemente	10 ml
	Mononatriumphosphat	6,24 g
	Kaliumchlorid	1,5 g
	Demineralisiertes Wasser	ad 1000 ml
	pH-Endwert: 7,0-7,2	

ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Reagenzien

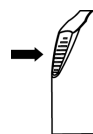
- API NaCl 0,85 % Medium, 2 ml (Best.Nr. 20 070)
- Reagenzien: JAMES (Best.Nr. 70 542)
NIT 1 + NIT 2 (Best.Nr. 70 442)
Zn (Best.Nr. 70 380)
- Oxidase (Best.Nr. 55 635*)
- * Dieses Produkt wird in einigen Ländern nicht vertrieben. Verwenden Sie ein gleichwertiges Reagenz.
- Paraffinöl (Best.Nr. 70 100)
- McFarland Standard 0,5 (Best.Nr. 70 900)
- API 20 NE Analytischer Profil Index (Best.Nr. 20 090) oder **apiweb™** Identifizierungssoftware (Best.Nr. 40 011) (bei bioMérieux anfragen)

Materialien

- Pipetten oder PSIpetten
- Schutzhülle für Ampullen
- Ampullenständer
- Allgemeine mikrobiologische Laborausrüstung

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Für die *in vitro* Diagnostik und die mikrobiologische Kontrolle.
- Nur für die Verwendung durch Fachkundige bestimmt.
- Dieser Kit enthält Bestandteile tierischen Ursprungs. Da durch die Kontrolle der Herkunft und/oder des Gesundheitszustandes der Tiere nicht völlig gewährleistet werden kann, dass diese Produkte keine übertragbaren pathogenen Agenzien enthalten, ist es empfehlenswert, diese als potenziell infektiös zu betrachten und unter Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln (nicht einnehmen, nicht einatmen).
- Alle Proben, mikrobielle Kulturen und beimpfte Produkte müssen als potenziell infektiös betrachtet und unter Beachtung geeigneter Vorsichtsmaßnahmen sachgemäß behandelt werden. Während der gesamten Testdurchführung müssen aseptische Arbeitsbedingungen und entsprechende Vorsichtsmaßnahmen für die zu untersuchende Keimgruppe eingehalten werden, siehe "CLSI M29A, *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Current revision*". Weitere diesbezügliche Informationen finden Sie in „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH – Latest edition“ oder in den jeweils gültigen nationalen Richtlinien.
- Die Reagenzien nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Vergewissern Sie sich vor Gebrauch, dass die Verpackung und die verschiedenen Bestandteile nicht beschädigt sind.
- Streifen mit äußeren Anzeichen einer Beschädigung (z.B. deformierte Vertiefungen etc.) nicht verwenden.
- Öffnen Sie die Ampullen wie folgt vorsichtig:
 - Stecken Sie die Ampulle in die Schutzhülle der Ampulle.
 - Halten Sie die Ampulle in der Schutzhülle senkrecht (weiße Verschlusskappe nach oben).
 - Pressen Sie die Verschlusskappe so weit wie möglich nach unten.
 - Drücken Sie mit dem Daumen gegen den gestrichelten Bereich der Verschlusskappe, bis die Ampullenspitze abbricht.
 - Nehmen Sie die Ampulle aus der Schutzhülle und bewahren Sie die Schutzhülle für einen späteren Gebrauch auf.
 - Entfernen Sie vorsichtig die Verschlusskappe.
- Die angegebene Performance wurde gemäß dem Verfahren der vorliegenden Arbeitsanleitung ermittelt. Jede Abweichung von diesem Verfahren kann die Ergebnisse beeinflussen.
- Bei der Interpretation der Ergebnisse müssen der klinische Hintergrund, die Probenherkunft, Kolonie- und mikroskopische Morphologie des Stammes sowie gegebenenfalls die Ergebnisse anderer Tests, insbesondere das Antibiogramm, berücksichtigt werden.



LAGERUNGSBEDINGUNGEN

Die Streifen und Medien müssen bei 2-8°C gelagert werden und sind bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar.

PROBEN (ENTNAHME UND VORBEREITUNG)

API 20 NE darf nicht zur direkten Testung von klinischen oder anderen Untersuchungsmaterialien verwendet werden. Die zu identifizierenden Mikroorganismen müssen gemäß den üblichen mikrobiologischen Verfahren auf einem geeigneten Kulturmedium (z.B. Trypticase-Soja-Agar) isoliert werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Oxidase

Der Oxidase-Test muss gemäß den Angaben des Herstellers durchgeführt werden. Das Ergebnis ist als Bestandteil des Profils (21. Identifikationsreaktion) in das Ergebnisblatt einzutragen.

Auswahl der Kolonien

API 20 NE sollte nur für gramnegative, nicht anspruchsvolle Stäbchen, die nicht zur Familie der *Enterobacteriaceae* gehören, eingesetzt werden.

ANMERKUNG 1: Einige gramnegative, nicht zur Familie der *Enterobacteriaceae* gehörende Stäbchen, wie z.B. *Acinetobacter* oder *S. maltophilia*, sind Oxidase negativ. Diese Mikroorganismen können ebenfalls mit API 20 NE identifiziert werden. Dabei sind klinische Informationen und andere bakteriologische Testergebnisse hilfreich.

ANMERKUNG 2: Anspruchsvolle Keime, bei deren Handhabung spezielle Vorsichtsmaßnahmen erforderlich sind (z.B. *Brucella* und *Francisella*), sind nicht in der API 20 NE Datenbasis enthalten. Wir empfehlen, für den Ausschluss oder die Identifizierung dieser Keime andere Tests zu verwenden.

Vorbereitung des Streifens

- Stellen Sie eine Inkubationswanne mit Deckel bereit und geben Sie zur Herstellung einer feuchten Kammer ca. 5 ml destilliertes oder demineralisiertes Wasser [oder anderes Wasser ohne Zusätze bzw. Derivate, die Gase freisetzen können (z.B. Cl₂, CO₂ ...)] in die Wanne.
- Notieren Sie die Referenznummer des Stammes auf dem dafür vorgesehenen seitlichen Abschnitt der Inkubationswanne. (Die Referenznummer nicht auf dem Deckel notieren, da er während des Arbeitsablaufes verwechselt werden oder abhanden kommen kann).
- Nehmen Sie den Streifen aus der Verpackung.
- Legen Sie den Streifen in die Wanne.

Vorbereitung des Inokulums

- Öffnen Sie eine Ampulle API NaCl 0,85 % Medium (2 ml), wie im Abschnitt "Vorsichtsmaßnahmen" dieser Arbeitsanleitung beschrieben, oder verwenden Sie ein anderes Röhrchen mit 2 ml physiologischer Kochsalzlösung ohne Zusätze.
- Nehmen Sie mit einer Pipette oder PSIPette 1-4 morphologisch gleiche Kolonien vom Agar ab (aspizieren oder abtupfen). Verwenden Sie vorzugsweise junge Kulturen (18-24 h alt).
- Stellen Sie eine Suspension entsprechend dem Trübungsstandard McFarland 0,5 her. Diese Suspension muss sofort verwendet werden.

ANMERKUNG: Es ist sehr wichtig, dass die Dichte des Inokulums genau auf den McFarland Standard 0,5 eingestellt wird. Besonders bei geringerer Trübung kann es zu falsch negativen Ergebnissen kommen. Die Becher dürfen während der Vorbereitung nicht berührt werden. Achten Sie auch darauf, dass der Streifen nach der Beimpfung nicht zu lange an der Luft stehen bleibt.

Beimpfung des Streifens

- Pipettieren Sie die Keimsuspension mit derselben Pipette in die Röhrchen NO₃ bis PNPG. Nur die Röhrchen, nicht die Becher füllen. Um Blasenbildung am Boden des Röhrchens zu vermeiden, halten Sie die Inkubationswanne leicht schräg und legen Sie die Spitze der Pipette bzw. PSIPette am Rand des Bechers auf.
- Öffnen Sie eine Ampulle API AUX Medium, wie im Abschnitt "Vorsichtsmaßnahmen" beschrieben, und pipettieren Sie ca. 200 µl der restlichen Keimsuspension in die Ampulle. Mit der Pipette gut homogenisieren, dabei die Bildung von Blasen vermeiden.
- Füllen Sie die Röhrchen und Becher der Tests GLU bis PAC so mit der Suspension, dass deren Oberfläche horizontal oder leicht konvex, auf keinen Fall aber konkav ist. Es ist wichtig, dass auch die Becher richtig gefüllt werden. Bei zu stark oder zu wenig gefüllten Bechern können falsche Ergebnisse auftreten.
- Überschichten Sie die Becher der 3 unterstrichenen Reaktionen (GLU, ADH und URE) hoch mit Paraffinöl (konvexer Meniskus).
- Decken Sie die Inkubationswanne ab und inkubieren Sie 24 h (± 2 h) bei 29°C ± 2°C.

ABLESTUNG UND INTERPRETATION

Ablesung des Streifens

- Lesen Sie nach der Inkubation den Streifen mit Hilfe der Ablesetabelle ab.
- Notieren Sie alle Spontanreaktionen (GLU, ADH, URE, ESC, GEL und PNPG) auf dem Ergebnisblatt.
- Beim Nachweis der beiden Reaktionen NO₃ und TRP müssen die Assimilationsreaktionen vor einer Kontamination durch Luftkeime geschützt werden. Sie sollten deshalb während der NO₃- und der TRP-Nachweisreaktion mit dem Deckel der Inkubationswanne abgedeckt werden.
- **NO₃-Reaktion:**
 - Geben Sie je 1 Tropfen der Reagenzien NIT 1 und NIT 2 in den NO₃-Becher.
 - Warten Sie 5 Minuten. Eine **rote** Färbung zeigt eine **positive** Reaktion an. Notieren Sie das Resultat auf dem Ergebnisblatt.
 - Ein negatives Ergebnis kann durch eine eventuelle Stickstoffproduktion (an der Bildung winziger Bläschen zu erkennen) bedingt sein. Geben Sie deshalb 2-3 mg Zn-Reagenz in den NO₃-Becher.
 - Bleibt der Becher nach 5 Minuten **farblos**, ist die Reaktion **positiv**. Notieren Sie das Resultat auf dem Ergebnisblatt. Wenn er **rosarot** wird, ist die Reaktion **negativ**, da die im Becher noch vorhandenen Nitrate durch Zink in Nitrit reduziert wurden.

Die Nitratreduktion ist positiv, wenn eine der beiden oben angegebenen Reaktionen (NO₂- oder N₂-Produktion) positiv ist.

Die N₂-Produktion kann jedoch separat als Zusatzreaktion verwendet werden (siehe Analytischer Profil Index).

TRP-Reaktion:

Geben Sie 1 Tropfen JAMES-Reagenz zu. Ein unmittelbar eintretender Farbumschlag nach **rosa** im ganzen Becher zeigt eine **positive** Reaktion an. Notieren Sie das Resultat auf dem Ergebnisblatt.

Assimilationsreaktionen:

Beobachten Sie das Bakterienwachstum. Eine **Trübung** im Becher zeigt eine **positive** Reaktion an.

Mitunter ist ein schwaches Wachstum zu beobachten. Notieren Sie in diesem Fall die Ergebnisse durch Vergleich der Intensität mit derjenigen der anderen Reaktionen auf dem Streifen unter Angabe von \mp oder \pm .

Nach dieser Ablesung sollte die Identifizierung (wie im Abschnitt "Interpretation" beschrieben) möglich sein.

Eine erneute Inkubation ist erforderlich:

- schwacher Selektivität;
- bei einem nicht akzeptierbaren oder zweifelhaften Profil;
- wenn das ermittelte Profil durch folgenden Hinweis gekennzeichnet ist:

IDENTIFIZIERUNG ERST NACH
48 STUNDEN INKUBATION MÖGLICH

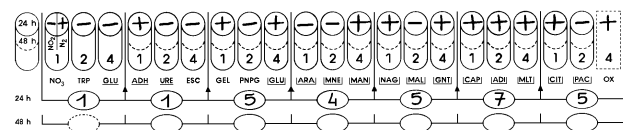
Entfernen Sie mit einer Pipette oder PSlpette die Reagenzien NIT 1, NIT 2 und JAMES durch Aspiration und überschichten Sie die NO₃- und TRP-Tests sofort hoch (konvexer Meniskus) mit Paraffinöl. Inkubieren Sie den Streifen bei 29°C ± 2°C für weitere 24 h und lesen Sie dann alle Tests erneut ab, bis auf die ersten 3 Reaktionen (NO₃, TRP und GLU), die nur nach 24-stündiger Inkubation abgelesen werden.

Interpretation

Die Identifizierung erhält man anhand des **numerischen Profils**.

- **Erstellung des numerischen Profils:**
Die biochemischen Reaktionen auf dem Ergebnisblatt sind in 3-er Gruppen eingeteilt. Jede positive Reaktion erhält den Wert 1, 2 oder 4, je nach Position des Tests innerhalb der Gruppe (1., 2. oder 3. Test). Durch Addieren der Zahlenwerte jeder Gruppe (negative Reaktion = 0) erhält man das 7-stellige numerische Profil. (Die Oxidase-reaktion ist der 21. Test und hat den Wert 4, wenn sie positiv ist.).

- **Identifizierung:**
Die Identifizierung erfolgt anhand der Datenbasis (V7.0)
* mit dem numerischen Profil:
- Schlagen Sie das numerische Profil im Analytischen Profil Index nach.
* mit der **apiweb™** Identifizierungssoftware:
- Geben Sie das 7-stellige numerische Profil manuell über die Tastatur ein.



1 154 575 Pseudomonas aeruginosa

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Streifen und Medien unterliegen in den verschiedenen Stadien der Produktion systematisch durchgeführten Qualitätskontrollen.

Es kann eine rationalisierte Qualitätskontrolle durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass die Leistungsdaten des API 20 NE Systems durch die Lagerung und den Transport nicht beeinflusst wurden. Dieses Verfahren kann durchgeführt werden, indem die oben genannten Testanweisungen befolgt und die in der Norm CLSI M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems genannten Kriterien eingehalten werden.

Da der Streifen keine Substrate enthält, die im Hinblick auf einen Abbau durch die Transportbedingungen empfindlich sind, kann die rationalisierte Qualitätskontrolle durch Testung von zwei Stämmen durchgeführt werden: **Aeromonas hydrophila ATCC® 35654**, der in den meisten Fällen positive Reaktionen hervorruft und **Alcaligenes faecalis ATCC 35655**, für den die meisten Tests des API 20 NE Systems negativ sind.

Für eine **umfassende Qualitätskontrolle** des Teststreifens müssen die folgenden vier Stämme getestet werden, um die positiven und negativen Reaktionen für die Mehrzahl der Tests des API 20 NE Streifens zu kontrollieren.

- | | | | |
|--------------------------------|------------|---------------------------------------|------------|
| 1. <i>Aeromonas hydrophila</i> | ATCC 35654 | 3. <i>Sphingobacterium multivorum</i> | ATCC 35656 |
| 2. <i>Alcaligenes faecalis</i> | ATCC 35655 | 4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 |

ATCC: American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX
1.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-*	-	+
2.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
3.	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
4.	+	-	-	V	V	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+

* Es können schwach positive Reaktionen beobachtet werden.

Profile der Tests ADH bis PAC nach 48-stündiger Inkubation, nach Anzucht der Kolonien auf Trypcase-Soja-Agar.

Es liegt in der Verantwortung des Anwenders, die Qualitätskontrolle in Übereinstimmung mit den jeweils gültigen Vorschriften durchzuführen.

LIMITIERUNGEN

- Das API 20 NE System ist nur zur Identifizierung der in der Datenbasis enthaltenen gramnegativen, nicht anspruchsvollen Keime, die nicht zur Familie der *Enterobacteriaceae* gehören, bestimmt (siehe Prozenttabelle am Ende dieser Arbeitsanleitung). Andere Mikroorganismen können weder identifiziert noch ausgeschlossen werden.
- Gramnegative, nicht fermentierende Stäbchen, die von Patienten mit Mukoviszidose isoliert wurden, können zu atypischen biochemischen Profilen führen, die die Identifizierung beeinträchtigen können.
- Es dürfen nur Reinkulturen verwendet werden.

ERWARTETE ERGEBNISSE

Die erwarteten Ergebnisse der verschiedenen biochemischen Reaktionen entnehmen Sie der Prozenttabelle am Ende dieser Arbeitsanleitung.

PERFORMANCE

5728 Stämme unterschiedlicher Herkunft und Stämme aus Stammsammlungen, die zu den Spezies der Datenbasis gehören, wurden getestet:

- 92,53 % der Stämme wurden korrekt identifiziert (mit oder ohne Zusatztests).
- 3,13 % der Stämme wurden nicht identifiziert.
- 4,34 % der Stämme wurden falsch identifiziert.

BESEITIGUNG DER ABFÄLLE

Nicht verwendete Ampullen des API AUX Mediums können wie normale Abfälle entsorgt werden.

Entsorgen Sie alle gebrauchten oder nicht gebrauchten Reagenzien (bis auf die Ampullen API AUX Medium) sowie kontaminierte Einwegmaterialien gemäß den für infektiöse oder potenziell infektiöse Materialien geltenden Bestimmungen.

Es liegt in der Verantwortung jedes Labors, die entstandenen Abfälle und Abwässer gemäß der jeweiligen Risikogruppe zu behandeln und deren Entsorgung in Übereinstimmung mit den gültigen gesetzlichen Bestimmungen sicherzustellen.

ABLESETABELLE

TESTS	AKTIVE BESTAND-TEILE	MENGE (mg/Vert.)	REAKTIONEN/ENZYME	ERGEBNISSE	
				NEGATIV	POSITIV
NO ₃	Kaliumnitrat	0,136	Nitratreduktion zu Nitrit	NIT 1 + NIT 2 / 5 min farblos rosa-rot	
			Nitratreduktion zu Stickstoff	Zn / 5 min rosa farblos	
TRP	L-Tryptophan	0,2	Indolbildung (TRyptophan)	JAMES / sofort farblos hellgrün / gelb rosa	
<u>GLU</u>	D-Glukose	1,92	Fermentation (GLUkose)	blau bis grün	gelb
<u>ADH</u>	L-Arginin	1,92	ArgininDiHydrolase	gelb	orange / rosa / rot
<u>URE</u>	Harnstoff	0,76	UREase	gelb	orange / rosa / rot
ESC	Aesculin Eisencitrat	0,56 0,072	Hydrolyse (β-Glucosidase) (AESCulin)	gelb	grau / braun / schwarz
GEL	Gelatine (bovinen Ursprungs)	0,6	Hydrolyse (Protease) (GELatine)	Keine Diffusion des Pigments	Diffusion von schwarzem Pigment
PNPG	4-Nitrophenyl-βD-Galactopyranosid	0,22	β-Galactosidase (Para-NitroPhenyl-βD-Galactopyranosidase)	farblos	gelb
<u>GLU</u>	D-Glukose	1,56	Assimilation (GLUkose)	transparent	trüb
<u>ARA</u>	L-Arabinose	1,4	Assimilation (ARAbinose)	transparent	trüb
<u>MNE</u>	D-Mannose	1,4	Assimilation (ManNosE)	transparent	trüb
<u>MAN</u>	D-Mannitol	1,36	Assimilation (MANnitol)	transparent	trüb
<u>NAG</u>	N-Acetylglucosamin	1,28	Assimilation (N-AcetylGlucosamin)	transparent	trüb
<u>MAL</u>	D-Maltose	1,4	Assimilation (MALtose)	transparent	trüb
<u>GNT</u>	Kaliumgluconat	1,84	Assimilation (KaliumGlucoNaT)	transparent	trüb
<u>CAP</u>	Caprinsäure	0,78	Assimilation (CAPrinsäure)	transparent	trüb
<u>ADI</u>	Adipinsäure	1,12	Assimilation (ADIpinsäure)	transparent	trüb
<u>MLT</u>	Apfelsäure	1,56	Assimilation (MaLaT)	transparent	trüb
<u>CIT</u>	Trinatriumcitrat	2,28	Assimilation (TrinatriumCITrat)	transparent	trüb
<u>PAC</u>	Phenylacetat	0,8	Assimilation (PhenylACetat)	transparent	trüb
OX	(siehe Arbeitsanleitung des Oxidase-Tests)	-	Cytochrom-Oxidase	(siehe Arbeitsanleitung des Oxidase-Tests)	

- Die angegebenen Mengen können je nach Konzentration der verwendeten Ausgangsmaterialien angeglichen werden.
- Einige Näpfchen enthalten Bestandteile tierischen Ursprungs, vor allem Peptone.

METHODIK	S. I
PROZENTTABELLE	S. II
LITERATUR	S. III
SYMBOLE	S. IV

bioMérieux, das blaue Logo, API und **apiweb** sind verwendete, angemeldete und/oder eingetragene Marken von bioMérieux SA oder einer ihrer Niederlassungen.

ATCC ist eine Marke von American Type Culture Collection.

Alle anderen Marken und Produktnamen sind das Eigentum ihrer jeweiligen Besitzer.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Gedruckt in Frankreich



Sistema de identificación de bacilos Gram negativos no enterobacterias y no fastidiosos

INTRODUCCIÓN Y OBJETO DEL ENSAYO

El galería API 20 NE es un sistema estandarizado para la identificación de los bacilos Gram negativos no enterobacterias y no fastidiosos (por ejemplo: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.), que combinan 8 ensayos convencionales, 12 ensayos de asimilación y una base de datos. La lista completa de las bacterias identificadas por el sistema está indicada en la Tabla de Identificación al final de esta ficha técnica.

PRINCIPIO

La galería API 20 NE incluye 20 microtubos que contienen substratos deshidratados.

Los ensayos convencionales se inoculan con una suspensión bacteriana salina que reconstituye los medios. Las reacciones que se producen durante la incubación se traducen en cambios de color, bien espontáneos o bien provocados mediante la adición de reactivos.

Los ensayos de asimilación se inoculan con un medio mínimo y las bacterias crecen solamente si son capaces de utilizar el correspondiente substrato.

La lectura de estas reacciones se hace con la ayuda de la Tabla de Identificación, y el reconocimiento se realiza mediante el Catálogo Analítico o con la ayuda de un Software de Identificación.

PRESENTACIÓN (kit de 25 test)

- 25 galerías API 20 NE
- 25 cámaras de incubación
- 25 ampollas de API AUX Medium
- 25 hojas de resultados
- 1 ficha técnica

COMPOSICIÓN

Galería

La composición de la galería API 20 NE puede verse en la Tabla de Identificación de la presente ficha técnica.

Medio

API AUX	Sulfato amónico	2 g
Medio	Agar	1,5 g
7 ml	Solución de vitaminas	10,5 ml
	Solución de oligoelementos	10 ml
	Fosfato monosódico	6,24 g
	Cloruro potásico	1,5 g
	Agua desmineralizada	csp 1000 ml
	pH 7,0-7,2	

REACTIVOS Y MATERIAL NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Reactivos

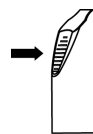
- API NaCl 0,85 % Medium, 2 ml (ref. 20 070)
- Reactivos : JAMES (ref. 70 542)
- NIT 1 + NIT 2 (ref. 70 442)
- Zn (ref. 70 380)
- Oxidasa (ref. 55 635*)
- * referencia no comercializada en ciertos países : utilizar un reactivo equivalente.
- Aceite de parafina (ref. 70 100)
- McFarland Standard (ref. 70 900) punto 0,5
- Catálogo Analítico API 20 NE (ref. 20 090) o Software de Identificación **apiweb™** (ref. 40 011) (consultar con bioMérieux)

Material

- Pipetas o PSIpettes
- Protege-ampolla
- Gradillas para ampollas
- Equipo general de laboratorio de microbiología

PRECAUCIONES DE UTILIZACIÓN

- **Para diagnóstico *in vitro* y control microbiológico.**
- **Exclusivamente para uso profesional.**
- Este envase contiene compuestos de origen animal. La falta de control sobre el origen y/o el estado sanitario de los animales, no nos permite garantizar de forma absoluta que estos productos no contengan algún agente patógeno transmisible, por lo que se recomienda manipularlos mediante las precauciones de utilización relativas a los productos potencialmente infecciosos: (no ingerir, ni inhalar).
- Todas las muestras, cultivos bacterianos y productos inoculados deben ser considerados como potencialmente infecciosos y ser manipulados de manera apropiada. Durante toda la manipulación, deben respetarse las normas de asépsia y tomar las precauciones habituales de manipulación para el grupo de bacterias estudiadas ; consultar: "CLSI M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* – Revisión en vigor". Para información complementaria sobre las precauciones de manipulación, consultar: "*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* - CDC/NIH - última edición", o la reglamentación vigente en el país de utilización.
- No emplear los reactivos después de su fecha de caducidad.
- Antes de su utilización, verificar la integridad del envase y de sus componentes.
- No utilizar galerías que hayan sufrido una alteración física: cúpula deformada, ...
- Abrir las ampollas con cuidado del modo siguiente:
 - Introducir la ampolla en el protege-ampolla.
 - Sujetar verticalmente el conjunto en una mano (tapón blanco hacia arriba).
 - Presionar a fondo el tapón.
 - Ejercer una presión horizontal con el pulgar en la parte estriada del tapón para romper la extremidad de la ampolla.
 - Retirar la ampolla del protege-ampolla y conservarlo para un próximo uso.
 - Retirar el tapón con cuidado.
- Las prestaciones indicadas han sido obtenidas mediante la metodología expresada en la presente ficha técnica. Toda desviación de dicha metodología puede alterar los resultados.
- La interpretación de los resultados del test debe ser realizada teniendo en cuenta un contexto clínico o de otro tipo, el origen de las muestras, los aspectos macro y microscópicos de la colonia y, eventualmente, los resultados de otros ensayos, particularmente del antibiograma.



CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Las galerías y los medios se conservan a 2-8°C hasta la fecha límite de utilización indicada en el envase.

MUESTRAS (RECOGIDA Y PREPARACIÓN)

La galería API 20 NE no debe ser utilizada directamente a partir de muestras de origen clínico o de otro tipo.

En una primera fase, los microorganismos a identificar deben aislarse sobre un medio de cultivo adecuado (por ejemplo Agar Trypcase Soja) según las técnicas usuales en microbiología.

MODO DE EMPLEO

Test de la Oxidasa

El test Oxidasa debe ser realizado según las instrucciones de utilización del fabricante, y constituye el test de identificación nº 21 a anotar en la hoja de resultados.

Selección de las colonias

La galería API 20 NE debe utilizarse exclusivamente con bacilos Gram negativos no enterobacterias y no fastidiosos.

NOTA 1: Ciertas especies de los bacilos Gram negativos no enterobacterias que son negativos a la oxidasa (*S. maltophilia*, *Acinetobacter*...) se identifican perfectamente mediante la galería API 20 NE. Se tendrá también en cuenta el contexto clínico o bacteriológico para la interpretación de esta galería.

NOTA 2: Los microorganismos fastidiosos, exigentes y los que necesitan precauciones de manipulación particulares (por ejemplo: *Brucella* y *Francisella*) no forman parte de la base de datos API 20 NE. Conviene utilizar otras técnicas para excluir o confirmar su presencia.

Preparación de la galería

- Reunir fondo y tapa de una cámara de incubación y repartir aproximadamente 5 ml de agua destilada o desmineralizada [o cualquier agua sin aditivos ni derivados susceptibles a liberar gases (Ej. Cl₂, CO₂ ...)] en los alveólos para crear una atmósfera húmeda.
- Inscribir la referencia de la cepa en la lengüeta lateral de la cámara. (No inscribir la referencia sobre la tapa, ya que ésta puede resultar extraviada durante la manipulación).
- Sacar una galería de su envase individual.
- Colocar la galería en la cámara de incubación.

Preparación del inóculo

- Abrir una ampolla de API NaCl 0,85% Medium (2 ml) como se indica en el párrafo "Precauciones de utilización" de la ficha técnica del producto o utilizar un tubo que contenga 2 ml de solución salina al 0,85%, sin aditivo.
- Con la ayuda de una pipeta o PSipette, tomar de 1 a 4 colonias de idéntica morfología, por aspiraciones o por toques sucesivos. Se recomienda utilizar cultivos jóvenes (18-24 horas).
- Realizar una suspensión de turbidez igual a 0,5 de McFarland. Esta suspensión debe ser utilizada de inmediato después de su preparación.

NOTA: Para el buen funcionamiento de los ensayos de la galería API 20 NE es muy importante ajustar la densidad del inóculo al punto 0,5 de McFarland. En particular, una turbidez inferior conduce a resultados falsamente negativos. No tocar las cúpulas durante las manipulaciones y tener cuidado de que las galerías no permanezcan expuestas al aire mucho tiempo tras su inoculación.

Inoculación de la galería

- Rellenar los tubos (y no las cúpulas) de los ensayos desde el NO₃ al PNPg con la suspensión precedente utilizando la pipeta que haya servido para la recogida. Para evitar la formación de burbujas en el fondo de los tubos, colocar la punta de la pipeta o PSipette sobre el lateral de la cúpula, inclinando ligeramente la cámara de incubación hacia delante.
- Abrir una ampolla de API AUX Medium como se indica en el párrafo "Precauciones de utilización" y transferir a ella unos 200 µl de la suspensión precedente. Homogeneizar con la pipeta evitando la formación de burbujas.
- Rellenar los tubos y las cúpulas de los ensayos desde el [GLU] al [PAC] teniendo cuidado de que se cree un menisco horizontal o ligeramente convexo pero jamás cóncavo. Las cúpulas que se hayan llenado de forma incompleta o excesiva pueden producir resultados incorrectos.
- Rellenar con aceite de parafina las cúpulas de los tres ensayos subrayados (GLU, ADH, URE) para formar un menisco convexo.
- Volver a cerrar la cámara de incubación e incubar a 29°C ± 2°C durante 24 horas (± 2 horas).

LECTURA E INTERPRETACIÓN

Lectura de la galería

- Después de la incubación, la lectura de la galería debe realizarse con relación a la Tabla de Identificación.
- Anotar en la hoja de resultados las reacciones espontáneas (GLU, ADH, URE, ESC, GEL, PNPg).
- El revelado de los dos ensayos de NO₃ y TRP debe realizarse poniendo los ensayos de asimilación al abrigo de una contaminación aérea; para ello, colocar la tapa de la cámara de incubación sobre estos ensayos, durante el periodo de relevado de los ensayos NO₃ y TRP.
- **Ensayo NO₃ :**
 - Añadir una gota del reactivo NIT 1 y NIT 2 en la cúpula NO₃.
 - Pasados 5 minutos, la aparición de un color **rojo** nos indicará una reacción **positiva**, que anotaremos en la hoja de resultados.
 - Una reacción negativa puede deberse a la producción de nitrógeno (eventualmente señalado por la presencia de microburbujas); añadir 2-3 mg de reactivo Zn en la cúpula NO₃.
 - Pasados 5 minutos, una cúpula **incolora** nos indica una reacción **positiva** que anotaremos en la hoja de resultados. Si la cúpula adquiere en color **rosa-rojo**, la reacción es **negativa** pues los nitratos aún presentes en el tubo se han reducido entonces en nitritos por la acción del zinc.

La reacción utilizada para la identificación de la bacteria es la reducción de los nitratos ; ésta es positiva si una u otra de las dos reacciones precedentes (producción de NO₂ o de N₂) es positiva.

Sin embargo la producción de N₂ puede utilizarse ella sola como ensayo complementario.

- **Ensayo TRP :**
 - Añadir una gota de reactivo JAMES. La difusión en toda la cúpula de un color **rosa** nos indica una reacción **positiva**.

• Ensayos de asimilación :

Observar el crecimiento bacteriano. Una cúpula **turbia** nos indica una reacción **positiva**.

Los brotes de intensidad intermedia pueden observarse y anotarse como \mp o \pm .

Una vez realizada esta lectura, la identificación se llevará a cabo tal y como se indica en el párrafo "Interpretación".

Es necesaria una reincubación en los siguientes casos :

- débil discriminación;
- perfil inaceptable o perfil dudoso;
- si el perfil obtenido nos indica la siguiente nota :

**IDENTIFICACIÓN NO VÁLIDA
ANTES DE 48 HORAS DE INCUBACIÓN**

En este caso, eliminar por aspiración, con la ayuda de una pipeta o de una Psipette los reactivos NIT 1, NIT 2 y JAMES, recubrir inmediatamente los ensayos NO₃ y TRP con aceite de parafina formando un menisco convexo, incubar de nuevo a 29°C ± 2°C y después leer pasadas las 24 horas, salvo los tres primeros ensayos: NO₃, TRP, GLU que deben leerse únicamente a las 24 horas.

Interpretación

La identificación se obtiene a partir del **perfil numérico**.

• Determinación del perfil numérico:

En la hoja de resultados, los tests están separados en grupos de 3 y se asigna para cada uno un valor 1, 2 ó 4. Sumando en el interior de cada grupo los números que corresponden a reacciones positivas, se obtienen 7 cifras; a la reacción de la oxidasa, que constituye el ensayo nº 21, le asignaremos el valor 4 cuando resulte positiva.

• Identificación:

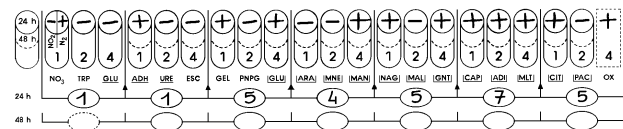
Se realiza a partir de la base de datos (V 7.0)

* Con la ayuda del Catálogo Analítico:

- Localizar el perfil numérico en la lista de los perfiles.

* Por medio del software de identificación **apiweb™**:

- Introducir manualmente por teclado el perfil numérico de 7 cifras.



1 154 575 Pseudomonas aeruginosa

CONTROL DE CALIDAD

Los medios, galerías y reactivos son objeto de controles de calidad sistemáticos durante las diferentes etapas de su fabricación.

Un **Control de Calidad Mínimo puede realizarse para verificar que las condiciones de almacenamiento y transporte no han tenido impacto sobre las prestaciones de la galería API 20 NE**. Este control puede realizarse siguiendo las instrucciones y criterios esperados más adelante en relación a CLSI M50-A Quality Control for Commercial Microbial identification Systems.

Como ningún sustrato de la galería no es sensible en las condiciones de almacenamiento y transporte, el Control de Calidad Mínimo puede realizarse probando dos cepas : **Aeromonas hydrophila ATCC® 35654** que presenta test principalmente positivos y **Alcaligenes faecalis ATCC 35655**, que presenta tests principalmente negativos con API 20 NE.

En caso de Control de Calidad Completo de la galería, las cuatro cepas siguientes deberán probarse para verificar las reacciones positivas y negativas de la mayoría de las pruebas de la galería API 20 NE.

- | | | | |
|--------------------------------|------------|---------------------------------------|------------|
| 1. <i>Aeromonas hydrophila</i> | ATCC 35654 | 3. <i>Sphingobacterium multivorum</i> | ATCC 35656 |
| 2. <i>Alcaligenes faecalis</i> | ATCC 35655 | 4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 |

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	LARA	LMNE	LMAN	LNAG	LMAL	LGNT	LCAP	LADI	LMLT	LCIT	LPAC	OX
1.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-*	-	+
2.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
3.	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
4.	+	-	-	V	V	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+

* Pueden observarse reacciones débilmente positivas.

Perfiles obtenidas de colonias cultivadas sobre Agar Trypcase Soja y después de 48 horas de incubación para los ensayos de ADH a PAC.

El usuario es responsable de cerciorarse de que el control de calidad haya sido realizado conforme a la legislación local vigente.

LÍMITES DEL ENSAYO

- El sistema API 20 NE está destinado únicamente a la identificación de los bacilos Gram negativos no enterobacterias y no fastidiosos presentes en la base de datos (ver Tabla de Identificación al final de la presente ficha técnica), y sólo a ellos. No puede utilizarse para identificar otros microorganismos ni para excluir su presencia.
- Los bacilos Gram negativos no fermentadores, aislados en pacientes afectados de mucoviscidosis, pueden generar perfiles bioquímicos atípicos susceptibles de alterar su identificación.
- Sólo se deben utilizar cultivos puros que contengan un sólo tipo de microorganismo.

RESULTADOS ESPERADOS

Consultar la Tabla de Identificación que se incluye al final de esta ficha técnica para aclarar los resultados esperados en las diferentes reacciones bioquímicas.

PRESTACIONES

Han sido ensayadas 5.728 cepas de diversos orígenes, así como cepas de colección pertenecientes a especies de la base de datos:

- 92,53% de las cepas han sido identificadas correctamente (con o sin ensayos complementarios).
- 3,13% de las cepas no han sido identificadas.
- 4,34% de las cepas se han identificado incorrectamente.

ELIMINACION DE LOS DESECHOS

Las ampollas de API AUX Medium no utilizadas pueden ser eliminadas como residuos no peligrosos.

Eliminar todos los reactivos utilizados o no utilizados (excepto las ampollas de API AUX Medium), así como los materiales de un solo uso contaminados siguiendo los procedimientos relativos de los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

Es responsabilidad de cada laboratorio la gestión de los desechos y efluentes que produce, según su naturaleza y peligrosidad, garantizando (o haciendo garantizar) su tratamiento y eliminación según las reglamentaciones aplicables.

TABLA DE IDENTIFICACIÓN

TESTS	COMPONENTES ACTIVOS	CANT. (mg/cúp.)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
NO ₃	nitrato potásico	0,136	reducción de Nitratos en nitritos	NIT 1 + NIT 2 / 5 min.	
				incoloro	rosa-rojo
			reducción de Nitratos en nitrógeno	Zn / 5 min.	
				rosa	incoloro
TRP	L-triptofano	0,2	formación de índole (TRiPtofano)	JAMES / inmediato	
				incoloro verde pálido / amarillo	rosa
GLU	D-glucosa	1,92	fermentación (GLUcosa)	azul a verde	amarillo
ADH	L-arginina	1,92	Arginina DiHidrolasa	amarillo	naranja / rosa / rojo
URE	urea	0,76	UREasa	amarillo	naranja / rosa / rojo
ESC	esculina citrato férrico	0,56 0,072	hidrólisis (β-glucosidasa) (ESCulina)	amarillo	gris / marrón / negro
GEL	gelatina (origen bovino)	0,6	hidrólisis (proteasa) (GELatina)	sin difusión del pigmento	difusión del pigmento negro
PNPG	4-nitrofenil-βD- galactopiranosida	0,22	β-galactosidasa (Para-NitroFenil-βD- Galactopiranosidasa)	incoloro	amarillo
GLU	D-glucosa	1,56	asimilación (GLUcosa)	transparencia	turbio
ARA	L-arabinosa	1,4	asimilación (ARAbinosa)	transparencia	turbio
MNE	D-manosa	1,4	asimilación (MaNoSA)	transparencia	turbio
MAN	D-manitol	1,36	asimilación (MANitol)	transparencia	turbio
NAG	N-acetil-glucosamina	1,28	asimilación (N-Acetil-Glucosamina)	transparencia	turbio
MAL	D-maltosa	1,4	asimilación (MALtosa)	transparencia	turbio
GNT	gluconato potásico	1,84	asimilación (GlucoNaTo potásico)	transparencia	turbio
CAP	ácido cáprico	0,78	asimilación (ácido CAPrico)	transparencia	turbio
ADI	ácido adípico	1,12	asimilación (ácido ADIpico)	transparencia	turbio
MLT	ácido málico	1,56	asimilación (MaLaTa)	transparencia	turbio
CIT	citrato trisódico	2,28	asimilación (CITrato trisódico)	transparencia	turbio
PAC	ácido fenilacético	0,8	asimilación (ácido fenilACético)	transparencia	turbio
OX	(ver ficha técnica del ensayo de oxidasas)	-	citocromo-oxidasas	(ver ficha técnica del ensayo de oxidasas)	

- Las cantidades indicadas pueden ser ajustadas en función de los títulos de las materias primas.
- Ciertas cúpulas contienen componentes de origen animal, especialmente peptona bovina/porcina.

METODOLOGÍA	p. I
TABLA DE IDENTIFICACIÓN	p. II
BIBLIOGRAFÍA	p. III
TABLA DE SÍMBOLOS	p. IV

bioMérieux, el logo azul, API y **apiweb** son marcas utilizadas, depositadas y/o registradas pertenecientes a bioMérieux SA o a cada una de sus filiales. ATCC es una marca perteneciente a American Type Culture Collection.

Las otras marcas y nombres de productos mencionados en este documento son marcas comerciales de sus respectivos propietarios.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Impreso en Francia



Sistema di identificazione di bacilli Gram negativi non enterici e non esigenti

INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

API 20 NE è un sistema standardizzato per l'identificazione di bacilli Gram-negativi, non esigenti, non enterici (per es. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, ecc.), che utilizza 8 test convenzionali, 12 test di assimilazione ed una base dei dati. La lista completa dei batteri che possono essere identificati con questo sistema è contenuta nella Tabella di Identificazione alla fine di questa scheda tecnica.

PRINCIPIO

La galleria API 20 NE è composta di 20 microprovette contenenti substrati disidratati.

I test convenzionali vengono ricostituiti inoculando una sospensione batterica in soluzione salina. Le reazioni prodotte durante il periodo di incubazione sono evidenziate da un viraggio cromatico spontaneo o successivo all'aggiunta di reagenti.

Nei test di assimilazione l'inoculo è costituito da un terreno povero e la crescita dei batteri è strettamente dipendente dalla loro capacità di utilizzare il substrato corrispondente.

La lettura delle reazioni si effettua utilizzando la Tabella di Lettura e l'identificazione si ottiene consultando l'Indice Analitico oppure utilizzando un software di identificazione.

CONTENUTO DELLA CONFEZIONE (25 test)

- 25 gallerie API 20 NE
- 25 vaschette di incubazione
- 25 fiale di API AUX Medium
- 25 schede per la registrazione dei risultati
- 1 scheda tecnica

COMPOSIZIONE

Galleria

La composizione della galleria API 20 NE è riportata nella Tabella di Lettura di questa scheda tecnica.

Terreno

API AUX Medium 7 ml	Solfato di ammonio	2 g
	Agar	1,5 g
	Soluzione di vitamine	10,5 ml
	Soluzione di oligo-elementi	10 ml
	Fosfato monosodico	6,24 g
	Cloruro di potassio	1,5 g
	Acqua demineralizzata	qsp 1000 ml
	pH finale : 7,0-7,2	

REATTIVI E MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Reattivi

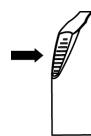
- API NaCl 0,85 % Medium, 2 ml (Cod. 20 070)
- Reattivi : JAMES (Cod. 70 542)
NIT 1 + NIT 2 (Cod. 70 442)
Zn (Cod. 70 380)
- Ossidasi (Cod. 55 635*)
* prodotto non venduto in alcune nazioni :
usare un reattivo equivalente.
- Olio di paraffina (Cod. 70 100)
- Standard di McFarland (Cod. 70 900), punto 0,5
- Indice Analitico API 20 NE (Cod. 20 090) o software di identificazione **apiweb™** (Cod. 40 011) (consultare bioMérieux)

Materiale

- Pipette o PSIsipette
- Proteggi-fiale
- Porta- fiale
- Equipaggiamento generico per laboratorio di batteriologia.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- **Per diagnostica *in vitro* e per controllo microbiologico.**
- **Esclusivamente per uso professionale.**
- Questa confezione contiene dei componenti di origine animale. Poiché i controlli sull'origine e/o sullo stato sanitario degli animali non possono garantire in maniera assoluta che questi prodotti non contengano nessun agente patogeno trasmissibile, si raccomanda di manipolarli con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare).
- I prelievi, le colture batteriche ed i prodotti seminati devono essere considerati come potenzialmente infettivi e devono essere manipolati in maniera appropriata da operatori competenti e preparati. Le tecniche di asepsi e le precauzioni d'uso per il gruppo batterico studiato devono essere rispettate durante tutta la manipolazione; fare riferimento a "CLSI M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections ; Approved Guideline* - Revisione in vigore". Per ulteriori informazioni sulle precauzioni di manipolazione, consultare "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH - Ultima edizione", oppure fare riferimento alla normativa vigente nel Paese.
- Non utilizzare i reattivi dopo la data di scadenza.
- Prima dell'uso verificare l'integrità dell'imballaggio e dei componenti.
- Non usare gallerie che abbiano subito una alterazione fisica: cupole deformate, ...
- Aprire le fiale delicatamente come segue :
 - Inserire la fiala nel proteggi-fiala.
 - Impugnare la fiala in posizione verticale (cappuccio bianco rivolto verso l'alto).
 - Spingere bene in fondo il cappuccio.
 - Premere orizzontalmente con il pollice sulla parte striata del cappuccio fino a rompere l'estremità della fiala.
 - Estrarre la fiala dal proteggi-fiala e conservare il proteggi-fiala per una successiva utilizzazione.
 - Togliere delicatamente il cappuccio.
- Le performance riportate di seguito sono state ottenute seguendo il procedimento indicato in questa scheda tecnica. Qualsiasi deviazione dal procedimento indicato può alterare i risultati.
- L'interpretazione dei risultati del test deve tener conto del contesto clinico o di altra natura, dell'origine del campione, degli aspetti macro e microscopici del ceppo ed, eventualmente, dei risultati di altri esami, in particolare dell'antibiogramma.



CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

Le gallerie ed i terreni si conservano a 2-8°C fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

CAMPIONI (PRELIEVO E PREPARAZIONE)

I campioni clinici o di altra natura non possono essere utilizzati direttamente con l'API 20 NE.

I microrganismi da identificare devono essere inizialmente isolati su un terreno di coltura appropriato (per es. agar Tripticasi Soia) secondo le normali tecniche batteriologiche.

PROCEDIMENTO

Test dell'Ossidasi

Il test dell'ossidasi deve essere eseguito secondo le istruzioni d'uso del fabbricante. Costituisce il 21° test di identificazione: annotare il risultato sulla scheda dei risultati.

Selezione delle colonie

API 20 NE deve essere utilizzato con bacilli Gram negativi non enterici e non esigenti.

NOTA 1: Alcune specie di bacilli Gram negativi non enterici ed ossidasi negativi (*S. maltophilia*, *Acinetobacter*...) possono essere perfettamente identificate con l'API 20 NE. Per utilizzare questa galleria ci si riferirà al contesto clinico o batteriologico.

NOTA 2: I germi fastidiosi ed esigenti che necessitano di particolari precauzioni nella manipolazione (per es. *Brucella* e *Francisella*) non fanno parte della base dati dell'API 20 NE. E' consigliabile utilizzare tecniche alternative per escluderne o confermarne la presenza.

Preparazione della galleria

- Riunire fondo e coperchio di una vaschetta di incubazione e distribuire circa 5 ml di acqua distillata o demineralizzata [o semplicemente di acqua senza additivi o derivati che potrebbero liberare gas (es. Cl₂, CO₂, ecc.)] negli alveoli del fondo per creare un ambiente umido.
- Annotare il riferimento identificativo del ceppo sulla linguetta laterale della vaschetta. (Non annotare il riferimento sul coperchio, in quanto potrebbe essere spostato al momento della manipolazione).
- Estrarre la galleria dalla confezione.
- Mettere la galleria nella vaschetta di incubazione.

Preparazione dell'inoculo

- Aprire una fiala di API NaCl 0,85 % Medium (2 ml) come indicato al paragrafo "Avvertenze e Precauzioni" della confezione del prodotto o utilizzare una provetta contenente 2 ml di soluzione fisiologica allo 0,85 % senza additivi.
- Servendosi di una pipetta o PSIpipetta, prelevare da 1 a 4 colonie di identica morfologia, per aspirazione o toccandole ripetutamente. Si raccomanda di utilizzare colture giovani (18-24 ore).
- Preparare una sospensione di torbidità uguale al punto 0,5 McFarland. Questa sospensione deve essere utilizzata subito dopo la preparazione.

NOTA: Per il buon funzionamento dei test della galleria API 20 NE, è molto importante adattare la densità dell'inoculo al punto 0,5 McFarland. In particolare, una torbidità più bassa causa risultati falsi negativi. Non toccare le cupole durante le manipolazioni e non lasciare le gallerie esposte all'aria per lungo tempo dopo l'inoculazione.

Inoculo della galleria

- Con la sospensione preparata riempire le provette (ma non le cupole) dei test da NO₃ a PNPg servendosi della pipetta utilizzata per il prelievo. Per evitare la formazione di bolle sul fondo della provette, inclinare leggermente in avanti la vaschetta di incubazione ed appoggiare la punta della pipetta o della PSIpipetta sul lato interno della cupola.
- Aprire una fiala di API AUX Medium come indicato al paragrafo "Avvertenze e Precauzioni" e trasferirvi circa 200 µl della sospensione precedente. Omogeneizzare con la pipetta, evitando la formazione di bolle.
- Riempire le provette e le cupole dei test da [GLU] a [PAC] fino ad ottenere un menisco orizzontale o leggermente convesso, ma mai concavo. Un riempimento incompleto o eccessivo delle cupole può causare risultati non corretti.
- Riempire con olio di paraffina le cupole dei 3 test sottolineati (GLU, ADH e URE) per formare un menisco convesso.
- Richiudere la vaschetta di incubazione ed incubare a 29°C ± 2°C per 24 ore (± 2 ore).

LETTURA ED INTERPRETAZIONE

Letture della galleria

- Dopo l'incubazione, la lettura della galleria deve essere effettuata servendosi della Tabella di Lettura.
- Trascrivere tutte le reazioni spontanee (GLU, ADH, URE, ESC, GEL e PNPG) sulla scheda per la registrazione dei risultati.
- La lettura dei due test NO₃ e TRP dovrebbe essere eseguita proteggendo gli altri test di assimilazione da una contaminazione da parte dell'aria. A tale scopo, coprire questi ultimi con il coperchio della vaschetta di incubazione mentre viene effettuata la lettura dei test NO₃ e TRP.

• Test NO₃:

- Aggiungere una goccia dei reattivi NIT 1 e NIT 2 nella cupola NO₃.
- Dopo 5 minuti, una colorazione **rossa** indica una reazione **positiva** da annotare sulla scheda per la registrazione dei risultati.
- Una reazione negativa può essere dovuta alla produzione di azoto (eventualmente segnalata dalla presenza di microbolle): aggiungere 2-3 mg di reattivo Zn nella cupola NO₃.
- Dopo 5 minuti, la presenza di una cupola **incolora** indica una reazione **positiva** da annotare sulla scheda per la registrazione dei dati. Se la cupola assume una colorazione **rosa-rossa**, la reazione è **negativa**, in quanto i nitrati, ancora presenti nella provetta, sono stati ridotti a nitriti dallo zinco.

La reazione utilizzata per l'identificazione del microrganismo è la riduzione dei nitrati. Questa è positiva se una delle due reazioni precedenti (produzione di NO₂ o N₂) è positiva.

La produzione di N₂ può tuttavia essere utilizzata da sola come test complementare secondo quanto indicato nell'Indice Analitico.

• Test TRP :

- Aggiungere 1 goccia di reattivo JAMES. Una colorazione **rosa** che si diffonde in tutta la cupola indica una reazione **positiva**.

• Test di assimilazione :

Osservare la crescita batterica. La reazione è **positiva** se la cupola appare **torbida**.

E' possibile osservare una crescita batterica di intensità moderata: in tal caso indicarla con i simboli \mp o \pm .

Una volta effettuata la lettura, occorre procedere all'identificazione come indicato al paragrafo "Interpretazione".

E' necessario procedere ad una re-incubazione:

- in caso di debole identificazione;
- in caso di profilo inaccettabile o dubbio;
- se per il profilo ottenuto è indicato il seguente messaggio:

IDENTIFICAZIONE NON VALIDA
PRIMA DI 48 ORE DI INCUBAZIONE

Con una pipetta o una PSipetta, eliminare per aspirazione i reattivi NIT 1, NIT 2 e JAMES e ricoprire immediatamente i test NO₃ e TRP con olio di paraffina formando un menisco convesso. Re-incubare la galleria a 29°C ± 2°C per altre 24 ore ed effettuare una nuova lettura per tutti i test tranne i primi tre (NO₃, TRP e GLU) che devono essere letti unicamente a 24 ore.

Interpretazione

L'identificazione si ottiene partendo dal **profilo numerico**.

• Determinazione del profilo numerico:

Sulla scheda dei risultati, i test sono separati in gruppi di tre e, ad ognuno, viene attribuito un valore pari a 1, 2 o 4. Sommando all'interno di ciascun gruppo i valori corrispondenti alle reazioni positive, si ottiene un numero a 7 cifre che costituisce il profilo numerico; In caso di positività, alla reazione dell'ossidasi che costituisce il 21° test è attribuito il valore di 4.

• Identificazione :

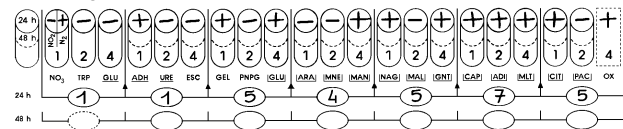
Si ottiene partendo dalla base dei dati (V7.0)

* utilizzando l'Indice Analitico

- Cercare il profilo numerico nella lista dei profili.

* tramite il software di identificazione **apiweb™**

- Digitare sulla tastiera il profilo numerico a 7 cifre.



1 154 575 *Pseudomonas aeruginosa*

CONTROLLO DI QUALITÀ

I terreni, le gallerie ed i reattivi sono sottoposti a controlli di qualità sistematici nelle diverse fasi del ciclo produttivo.

Il **Controllo di Qualità Minimo** può essere utilizzato per verificare che le condizioni di conservazione e di trasporto non hanno impatto sulle performance della galleria API 20 NE. Questo controllo può essere eseguito seguendo le istruzioni ed i criteri riportati sopra, vincolati al referenziale CLSI M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

Poiché nessun substrato della galleria è sensibile alle condizioni di conservazione e di trasporto, Il **Controllo di Qualità Minimo** può essere eseguito testando due ceppi: ***Aeromonas hydrophila* ATCC® 35654**, che presenta dei test principalmente positivi e ***Alcaligenes faecalis* ATCC 35655** che presenta dei test principalmente negativi con API 20 NE.

Nel caso in cui per questa galleria si debba eseguire un **Controllo di Qualità Completo**, per verificare le reazioni positive e negative della maggior parte dei test della galleria API 20 NE dovranno essere testati i quattro ceppi seguenti.

- | | | | |
|--------------------------------|------------|---------------------------------------|------------|
| 1. <i>Aeromonas hydrophila</i> | ATCC 35654 | 3. <i>Sphingobacterium multivorum</i> | ATCC 35656 |
| 2. <i>Alcaligenes faecalis</i> | ATCC 35655 | 4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 |

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX
1.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-*	-	+
2.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
3.	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
4.	+	-	-	V	V	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+

* E' possibile osservare delle reazioni debolmente positive.

Profili per i test da ADH a PAC ottenuti dopo coltura su agar Tripticasi Soia e dopo 48 ore di incubazione.

E' responsabilità dell'utilizzatore assicurarsi che il controllo di qualità corrisponda a quanto previsto dalla legislazione vigente.

LIMITI DEL METODO

- Il sistema API 20 NE è destinato all'identificazione dei bacilli Gram negativi non enterobatteri e non esigenti inclusi nella base dei dati (vedere la Tabella di Identificazione alla fine della scheda tecnica) e solo di questi. Non può essere utilizzato per identificare altri microrganismi o per escluderne la presenza.
- I bacilli Gram negativi non fermentanti, isolati da pazienti affetti da mucoviscidosi, possono generare profili biochimici atipici che possono alterare la loro identificazione.
- Devono essere utilizzate unicamente colture pure contenenti un solo tipo di microrganismo.

RISULTATI ATTESI

Per i valori attesi per le differenti reazioni biochimiche far riferimento alla Tabella di Identificazione alla fine della scheda tecnica.

PERFORMANCE

Sono stati testati 5728 ceppi di diversa origine e ceppi di collezione appartenenti a quelli inclusi nella base dei dati:

- il 92,53 % dei ceppi è stato correttamente identificato (con o senza test complementari).
- il 3,13 % dei ceppi non è stato identificato.
- il 4,34 % dei ceppi non è stato identificato correttamente.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Le fiale di API AUX Medium non utilizzate possono essere smaltite come rifiuti non pericolosi.

Smaltire i reattivi utilizzati o non utilizzati (diversi dalle fiale di API AUX Medium) ed i materiali monouso contaminati seguendo le procedure relative ai prodotti infettivi o potenzialmente infettivi.

E' responsabilità di ogni laboratorio gestire i rifiuti e gli effluenti prodotti a seconda della loro natura e della loro pericolosità ed assicurarne (o farne assicurare) il trattamento e lo smaltimento conformemente alla legislazione vigente.

TABELLA DI LETTURA

TEST	SUBSTRATI	QUANTITA' (mg/cup.)	REAZIONI/ENZIMI	RISULTATI	
				NEGATIVO	POSITIVO
NO ₃	Nitrato di potassio	0,136	Riduzione dei nitrati in nitriti	NIT 1 + NIT 2 / 5 min incoloro rosa-rosso	
			riduzione dei nitrati in azoto	Zn / 5 min rosa incoloro	
TRP	L-triptofano	0,2	Produzione di indolo (TRiptofano)	JAMES / immediato incoloro verde chiaro / giallo rosa	
GLU	D-glucosio	1,92	fermentazione (GLUcosio)	da blu a verde	giallo
ADH	L-arginina	1,92	Arginina Deidrolasi	giallo	arancione / rosa / rosso
URE	urea	0,76	UREasi	giallo	arancione / rosa / rosso
ESC	esculina citrato ferrino	0,56 0,072	idrolisi (β-glucosidasi) (ESCuлина)	giallo	grigio / marrone / nero
GEL	gelatina (origine bovina)	0,6	idrolisi (proteasi) (GELatina)	nessuna diffusione del pigmento	diffusione del pigmento nero
PNPG	4-nitrofenil-βD- galattopiranoside	0,22	β-galattosidasi (Para-NitroFenil-βD- Galattopiranosidasi)	incoloro	giallo
[GLU]	D-glucosio	1,56	assimilazione (GLUcosio)	trasparente	torbido
[ARA]	L-arabinosio	1,4	assimilazione (ARAbinosio)	trasparente	torbido
[MNE]	D-mannosio	1,4	assimilazione (ManNosio)	trasparente	torbido
[MAN]	D-mannitolo	1,36	assimilazione (MANnitolo)	trasparente	torbido
[NAG]	N-acetil-glucosamina	1,28	assimilazione (N-Acetil-Glucosamina)	trasparente	torbido
[MAL]	D-maltosio	1,4	assimilazione (MALtosio)	trasparente	torbido
[GNT]	potassio gluconato	1,84	assimilazione (GlucONaTo di potassio)	trasparente	torbido
[CAP]	acido caprico	0,78	assimilazione (acido CAPrico)	trasparente	torbido
[ADI]	acido adipico	1,12	assimilazione (acido ADIpico)	trasparente	torbido
[MLT]	acido malico	1,56	assimilazione (MaLaTo)	trasparente	torbido
[CIT]	citrato trisodico	2,28	assimilazione (CITrato trisodico)	trasparente	torbido
[PAC]	acido fenilacetico	0,8	assimilazione (acido FenilACetico)	trasparente	torbido
OX	(vedere la scheda tecnica del test ossidasi)	-	citocromo ossidasi	(vedere la scheda tecnica del test ossidasi)	

- Le quantità indicate possono essere aggiustate in funzione dei titoli delle materie prime.
- Alcune cupole contengono dei componenti di origine animale, in particolare dei peptoni.

PROCEDIMENTO	p. I
TABELLA DI IDENTIFICAZIONE	p. II
BIBLIOGRAFIA	p. III
TABELLA DEI SIMBOLI	p. IV

bioMérieux, il logo blu, API e **apiweb** sono marchi utilizzati, depositati e/o registrati di proprietà di bioMérieux SA o di una delle sue filiali.

ATCC è un marchio utilizzato di proprietà di American Type Culture Collection.

Gli altri marchi e nomi di prodotti menzionati in questo documento sono marchi commerciali dei loro rispettivi detentori.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Stampato in Francia



Sistema de identificação de bacilos Gram negativos não enterobactérias e não fastidiosos

INTRODUÇÃO E OBJECTIVO DO TESTE

O API 20 NE é um sistema padronizado para a identificação de bacilos Gram negativos não enterobactérias e não fastidiosos (ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.) que combina 8 testes convencionais, 12 testes de assimilação e uma base de dados. A lista completa das bactérias possíveis de identificar com este sistema apresenta-se no Quadro de Identificação no final do folheto informativo.

PRINCÍPIO

A galeria API 20 NE comporta 20 microtubos que contêm substratos desidratados.

Os testes convencionais são inoculados com uma suspensão bacteriana salina que reconstitui os meios. As reacções produzidas durante o período de incubação traduzem-se por viragens de cor espontâneas ou reveladas através da adição de reagentes.

Os testes de assimilação são inoculados com um meio mínimo e as bactérias crescem apenas se forem capazes de utilizar o substrato correspondente.

A leitura destas reacções faz-se utilizando o Quadro de Leitura e a identificação é obtida utilizando o Catálogo Analítico ou um sistema de identificação.

APRESENTAÇÃO (embalagem de 25 testes)

- 25 galerias API 20 NE
- 25 caixas de incubação
- 25 ampolas de API AUX Medium
- 25 fichas de resultados
- 1 folheto informativo

COMPOSIÇÃO

Galeria

A composição da galeria API 20 NE é apresentada no quadro de leitura deste folheto informativo.

Meio

API AUX Medium 7 ml	Sulfato de amónio	2 g
	Agar	1,5 g
	Solução de vitaminas	10,5 ml
	Solução de oligo-elementos	10 ml
	Fosfato monossódico	6,24 g
	Cloreto de potássio	1,5 g
	Água desmineralizada	q.b. 1000 ml
	pH final : 7,0-7,2	

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Reagentes

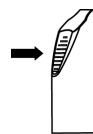
- API NaCl 0,85 % Medium, 2 ml (Ref. 20 070)
- Reagentes : JAMES (Ref. 70 542)
NIT 1 + NIT 2 (Ref. 70 442)
Zn (Ref. 70 380)
- Oxidase (Ref. 55 635*)
* referência não comercializada em alguns países :
utilizar um reagente equivalente.
- Óleo de parafina (Ref. 70 100)
- McFarland Standard (Ref. 70 900) ponto 0,5
- Catálogo Analítico API 20 NE (Ref. 20 090) ou Programa de identificação **apiweb™** (Ref. 40 011) (consultar a bioMérieux)

Materiais

- Pipetas ou PSIPetas
- Protector de ampola
- Suporte para ampolas
- Equipamento geral de laboratório de bacteriologia

PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

- **Para diagnóstico *in vitro* e para controlo microbiológico.**
- **Unicamente para uso profissional.**
- Este dispositivo contém componentes de origem animal. O controlo da origem e/ou do estado sanitário dos animais não podem garantir de maneira absoluta que estes produtos não contenham nenhum agente patogénico transmissível, é recomendado manipulá-los com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos (não ingerir; não inalar).
- As amostras, culturas bacterianas e produtos semeados devem ser considerados potencialmente infecciosos e manipulados de maneira apropriada. As técnicas assépticas e as precauções habituais de manipulação para o grupo bacteriano estudado devem ser respeitadas durante toda a manipulação; consultar o "CLSI M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* – Revisão em vigor". Para informações complementares sobre as precauções de manipulação, consultar o "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Última edição", ou a regulamentação em vigor no país de utilização.
- Não utilizar os reagentes após a data de validade.
- Antes da utilização, assegurar-se de que a embalagem e os componentes não estão danificados.
- Não utilizar galerias que tenham sofrido uma alteração física: cúpula deformada, ...
- Abrir cuidadosamente as ampolas, como abaixo indicado :
 - Colocar a ampola no protector de ampola.
 - Segurar o conjunto verticalmente numa mão (tampa branca para cima).



- Fechar bem a tampa.
- Pressionar horizontalmente com o polegar a parte estriada da tampa de forma a partir a extremidade da ampola.
- Retirar a ampola do protector de ampola e conservá-lo para uma posterior utilização.
- Retirar delicadamente a tampa.

- O comportamento funcional apresentado é obtido com o procedimento indicado neste folheto informativo. Qualquer desvio à metodologia pode alterar os resultados.
- A interpretação dos resultados do teste deve ser efectuada tendo em conta o contexto clínico ou outro, a origem da amostra, os aspectos macro e microscópicos da estirpe/cepa e, eventualmente, os resultados de outros testes, em especial, do antibiograma.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

As galerias e os meios conservam-se a 2° - 8° C até à data de validade indicada na embalagem.

AMOSTRAS (COLHEITA/COLETA E PREPARAÇÃO)

O API 20 NE não deve ser utilizado directamente em amostras de origem clínica ou outras.

Os microrganismos a identificar devem primeiro ser isolados num meio de cultura adaptado (ex. gelose Trypcase Soja) segundo as técnicas habituais de bacteriologia.

PROCEDIMENTO

Teste Oxidase

O teste oxidase deve ser realizado em conformidade com as instruções de utilização do fabricante, constitui o 21º teste de identificação a anotar na ficha de resultados.

Seleção das colónias

O API 20 NE deve ser utilizado com bacilos Gram negativos não enterobactérias e não fastidiosos.

NOTA 1 : algumas espécies de bacilos Gram negativos não enterobactérias que são oxidase negativa (*S. maltophilia*, *Acinetobacter*...) identificam-se perfeitamente com o API 20 NE. Há que ter em conta o contexto clínico ou bacteriológico para utilizar esta galeria.

NOTA 2 : Os microrganismos fastidiosos, exigentes que necessitam de precauções de manipulação particulares (ex. *Brucella* e *Francisella*) não fazem parte da base de dados API 20 NE. Convém utilizar outras técnicas para excluir ou confirmar a sua presença.

Preparação da galeria

- Juntar fundo e tampa de uma caixa de incubação e distribuir cerca de 5 ml de água destilada ou desmineralizada [ou qualquer água sem aditivo ou derivados susceptíveis de libertarem gases (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] nos alvéolos para criar uma atmosfera húmida.
- Inscrever a referência da estirpe/cepa na lingueta lateral da caixa. (Não inscrever a referência na tampa, esta pode ser deslocada durante a manipulação).
- Retirar a galeria da embalagem individual.
- Colocar a galeria na caixa de incubação.

Preparação do inóculo

- Abrir uma ampola de API NaCl 0,85 % Medium (2 ml) como indicado no parágrafo "Precauções de utilização" do folheto informativo do produto ou utilizar um tubo contendo 2 ml de solução salina a 0,85 %, sem aditivo.
- Utilizando uma pipeta ou uma PSIpeta, colher/coletar 1 a 4 colónias de morfologia idêntica, por aspirações ou por toques sucessivos. Utilizar de preferência culturas recentes (18-24 horas).
- Efectuar uma suspensão com opacidade equivalente a 0,5 de McFarland. Esta suspensão deve ser utilizada imediatamente após a sua preparação.

NOTA : Para o bom funcionamento dos testes da galeria API 20 NE, é muito importante ajustar a densidade do inóculo ao ponto 0,5 de McFarland. Em especial, uma turbidez mais fraca conduz a resultados falsamente negativos. Não tocar nas cúpulas na altura das manipulações e não deixar a galeria demasiado tempo exposta ao ar depois da inoculação.

Inoculação da galeria

- Encher os tubos (e não as cúpulas) dos testes NO₃ a PNPG com a suspensão anterior utilizando a pipeta que serviu para a colheita/coleta. Para evitar a formação de bolhas no fundo dos tubos, colocar a ponta da pipeta ou da PSIpeta de lado da cúpula, inclinando ligeiramente a caixa de incubação para a frente.
- Abrir uma ampola de API AUX Medium como indicado no parágrafo "Precauções de utilização" e para ela transferir cerca de 200 µl da suspensão anterior. Homogeneizar com a pipeta evitando a formação de bolhas.
- Encher os tubos e cúpulas dos testes GLU a PAC tendo cuidado de criar um nível horizontal ou ligeiramente convexo, mas nunca côncavo. As cúpulas incompletamente cheias ou demasiado cheias podem conduzir a falsos resultados.
- Encher com óleo de parafina as cúpulas dos três testes sublinhados (GLU, ADH, URE) para formar um menisco convexo.
- Fechar a caixa de incubação e incubar a 29°C ± 2°C durante 24 horas (± 2 horas).

LEITURA E INTERPRETAÇÃO

Leitura da galeria

- Após incubação, a leitura da galeria deve fazer-se consultando o Quadro de Leitura.
- Anotar na ficha de resultados todas as reacções espontâneas (GLU, ADH, URE, ESC, GEL, PNPG).
- A revelação dos dois testes NO₃ e TRP deve fazer-se colocando os testes de assimilação ao abrigo de uma contaminação através do ar ; para isso, colocar a tampa da caixa de incubação por cima destes testes, durante o período de revelação dos testes NO₃ e TRP.

• Teste NO₃ :

- Adicionar uma gota de reagentes NIT 1 e NIT 2 na cúpula NO₃.
- Depois de 5 min., uma cor **vermelha** indica uma reacção **positiva**, a anotar na ficha de resultados.
- Uma reacção negativa pode ser devida à produção de azoto (eventualmente assinalada pela presença de microbolhas) ; adicionar 2-3 mg de reagente Zn na cúpula NO₃.
- Depois de 5 min., uma cúpula que continua **incolor** indica uma reacção **positiva** a anotar na ficha de resultados.

Se a cúpula virar para **rosa-vermelho**, a reacção é **negativa** visto que os nitratos ainda presentes no tubo foram reduzidos a nitritos pelo zinco.

A reacção utilizada para a identificação da bactéria é a redução dos nitratos; esta é positiva se uma ou outra das duas reacções anteriores (produção de NO₂ ou de N₂) for positiva.

No entanto, a produção de N₂ pode ser utilizada unicamente como teste complementar no Catálogo Analítico.

• Teste TRP :

Adicionar uma gota de reagente JAMES. Uma cor **rosa** difundida em toda a cúpula indica uma reacção **positiva**.

• Testes de assimilação :

Observar o crescimento bacteriano. Uma cúpula **turva** indica uma reacção **positiva**.

Podem ser observados crescimentos de intensidade intermédia e anotados \mp ou \pm .

Depois da leitura efectuada, a identificação deve ser feita como indicado no parágrafo "Interpretação".

É necessária uma reincubação nos casos seguintes:

- fraca discriminação;
- perfil inaceitável;
- se a nota a seguir for indicada para o perfil obtido :

**IDENTIFICAÇÃO NÃO VÁLIDA
ANTES DE 48 H DE INCUBAÇÃO**

Eliminar, utilizando uma pipeta ou uma PSIpeta, os reagentes NIT 1, NIT 2 e JAMES por aspiração, cobrir imediatamente os testes NO₃ e TRP de óleo de parafina formando um menisco convexo, incubar novamente a 29°C ± 2°C e ler 24 h mais tarde, excepto os três primeiros testes : NO₃, TRP, GLU que devem ser lidos unicamente a 24 h.

Interpretação

A identificação é obtida a partir do **perfil numérico**.

- Determinação do perfil numérico :

Na ficha de resultados, os testes são separados por grupos de três e um valor 1, 2 ou 4 é indicado para cada um. Adicionando em cada grupo os valores que correspondem às reacções positivas, obtém-se 7 algarismos ; a reacção da oxidase que constitui o 21º teste é assinalada com o valor 4 quando positiva.

- Identificação :

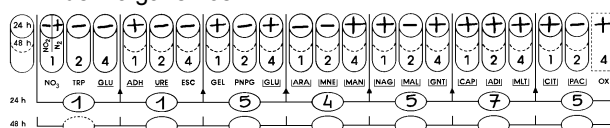
É efectuada a partir da base de dados (V 7.0)

* com o Catálogo Analítico :

- Pesquisar o perfil numérico na lista dos perfis.

* com o programa de identificação **apiweb™** :

- Introduzir manualmente no teclado o perfil numérico de 7 algarismos.



1 154 575 Pseudomonas aeruginosa

CONTROLO DE QUALIDADE

Os meios, galerias e reagentes são sujeitos a controlos de qualidade sistemáticos nas diferentes etapas do seu fabrico.

Pode ser utilizado o **Controlo de Qualidade Mínimo** para verificar que as condições de armazenamento e de transporte não têm impacto no comportamento funcional da galeria API 20 NE. Este controlo pode ser utilizado seguindo as instruções e critérios esperados acima em relação ao referencial CLSI M50-A Quality Control for Commercial Microbial identification Systems.

Como nenhum substrato da galeria é sensível às condições de armazenamento e de transporte, o Controlo de Qualidade Mínimo pode ser efectuado testando duas estirpes/cepas: **Aeromonas hydrophila ATCC® 35654** que apresenta principalmente testes positivos e **Alcaligenes faecalis ATCC 35655**, que apresenta principalmente testes negativos com API 20 NE.

No caso em que o controlo de Qualidade Completo é exigido para esta galeria, as quatro estirpes/cepas seguintes deverão ser testadas para verificar as reacções positivas e negativas da maioria dos testes da galeria IAPI 20 NE.

- | | | | |
|--------------------------------|------------|---------------------------------------|------------|
| 1. <i>Aeromonas hydrophila</i> | ATCC 35654 | 3. <i>Sphingobacterium multivorum</i> | ATCC 35656 |
| 2. <i>Alcaligenes faecalis</i> | ATCC 35655 | 4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 |

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX
1.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-*	-	+
2.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
3.	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
4.	+	-	-	V	V	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+

* Podem ser observadas reacções fracamente positivas.

Perfis obtidos a partir de colónias após cultura em gelose Trypcase Soja e após 48 horas de incubação para os testes ADH a PAC.

É da responsabilidade do utilizador assegurar que o controlo de qualidade é efectuado em conformidade com a legislação local em vigor.

LIMITES DO TESTE

- O sistema API 20 NE destina-se à identificação dos bacilos Gram negativos não enterobactérias e não fastidiosos presentes na base de dados (consultar o Quadro de Identificação no final do folheto informativo) e apenas a estes. Não pode ser utilizado para identificar outros microrganismos ou excluir a sua presença.
- Os bacilos Gram negativos não fermentadores, isolados de doentes com mucoviscidose, podem criar perfis bioquímicos atípicos susceptíveis de alterar a sua identificação.
- Devem ser apenas utilizadas culturas puras contendo um único tipo de microrganismo.

RESULTADOS ESPERADOS

Consultar o Quadro de Identificação no final deste folheto informativo para saber os resultados esperados para as diferentes reacções bioquímicas.

COMPORTAMENTO FUNCIONAL

Foram testadas 5728 estirpes/cepas de diversas origens e estirpes/cepas de colecção pertencentes às espécies da base de dados:

- 92,53 % das estirpes/cepas foram correctamente identificadas (com ou sem testes complementares).
- 3,13 % das estirpes/cepas não foram identificadas.
- 4,34 % das estirpes/cepas foram mal identificadas.

ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS

As ampolas de API AUX Medium não utilizadas podem ser eliminadas como resíduos não perigosos.

Eliminar todos os reagentes utilizados ou não utilizados (que não as ampolas de API AUX Medium) bem como os materiais descartáveis contaminados seguindo os procedimentos relativos aos produtos infecciosos ou potencialmente infecciosos.

É da responsabilidade de cada laboratório gerir os resíduos e os efluentes que este produz consoante a sua natureza e o seu perigo, e assegurar (ou fazer assegurar) o tratamento e a eliminação em conformidade com as regulamentações aplicáveis.

QUADRO DE LEITURA

TESTES	COMPONENTES ACTIVOS	QDE (mg/cúp.)	REACÇÕES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
NO ₃	Nitrato de potássio	0,136	redução dos Nitratos em nitritos	incolor	rosa-vermelho
			redução dos Nitratos em azoto	rosa	Incolor
TRP	L-triptofano	0,2	formação de indol (TRiptofano)	incolor verde pálido / amarelo	rosa
GLU	D-glucose	1,92	fermentação (GLUcose)	azul a verde	amarelo
ADH	L-arginina	1,92	Arginina DiHidrolase	amarelo	laranja / rosa / vermelho
URE	ureia	0,76	UREase	amarelo	laranja / rosa / vermelho
ESC	esculina citrato de ferro	0,56 0,072	Hidrólise (β-glucosidase) (ESculina)	amarelo	cinzento / castanho / negro
GEL	gelatina (origem bovina)	0,6	Hidrólise (protease) (GELatina)	não há difusão do pigmento	difusão do pigmento negro
PNPG	4-nitrofenil-βD- galactopiranosido	0,22	β-galactosidase (Para-Nitrofenil-βD- Galactopiranosidase)	incolor	amarelo
[GLU]	D-glucose	1,56	assimilação (GLUcose)	transparência	turvo
[ARA]	L-arabinose	1,4	assimilação (ARABinose)	transparência	turvo
[MNE]	D-manose	1,4	assimilação (MaNosE)	transparência	turvo
[MAN]	D-manitol	1,36	assimilação (MANitol)	transparência	turvo
[NAG]	N-acetil-glucosamina	1,28	assimilação (N-Acetil-Glucosamina)	transparência	turvo
[MAL]	D-maltose	1,4	assimilação (MALtose)	transparência	turvo
[GNT]	potássio gluconato	1,84	assimilação (potássio GlucoNaTo)	transparência	turvo
[CAP]	ácido caprato	0,78	assimilação (ácido CAPrato)	transparência	turvo
[ADI]	ácido adipato	1,12	assimilação (ácido ADIpató)	transparência	turvo
[MLT]	ácido malato	1,56	assimilação (MaLaTo)	transparência	turvo
[CIT]	citrato de trisódio	2,28	assimilação (CITrato de trisódio)	transparência	turvo
[PAC]	ácido fenil-acetato	0,8	assimilação (ácido fenil-ACetato)	transparência	turvo
OX	(consultar o folheto informativo do teste oxidase)	-	citocromo-oxidase	(consultar o folheto informativo do teste oxidase)	

- As quantidades indicadas podem ser ajustadas em função dos títulos das matérias-primas.
- Algumas cúpulas contêm componentes de origem animal, nomeadamente, peptona bovina ou porcina.

PROCEDIMENTO	p. I
QUADRO DE IDENTIFICAÇÃO	p. II
BIBLIOGRAFIA	p. III
QUADRO DE SÍMBOLOS	p. IV

A bioMérieux, o logotipo azul, API e apiweb são marcas utilizadas, depositadas e/ou registadas, propriedade exclusiva da bioMérieux SA ou de uma das suas filiais.

ATCC é uma marca da propriedade exclusiva da American Type Culture Collection.

As outras marcas e nomes de produtos mencionados neste documento são marcas comerciais dos respectivos proprietários.

Brasil: Distribuído por bioMérieux Brasil S.A. - Estrada do Mapuá, 491 - Jacarepaguá - R.J. - CEP 22710-261

CNPJ: 33.040.635/0001-71

Atendimento ao Consumidor Tel.: 0800-264848

Prazo de Validade, N° de Lote, N° de Registro de Ministério da Saúde e Responsável Técnico:
VIDE EMBALAGEM



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Impresso em França



Σύστημα ταυτοποίησης για μη-απαιτητικά, μη-εντεροβακτηριακά Gram-αρνητικά βακτηρίδια

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Το API 20 NE αποτελεί ένα προτυποποιημένο σύστημα για την ταυτοποίηση μη-απαιτητικών, μη-εντεροβακτηριακών Gram-αρνητικών βακτηριδίων (π.χ. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, κτλ.), συνδυάζοντας 8 συμβατικές εξετάσεις, 12 εξετάσεις αφομοίωσης και μια βάση δεδομένων. Ο πλήρης κατάλογος εκείνων των οργανισμών που είναι δυνατόν να ταυτοποιηθούν με αυτό το σύστημα παρατίθεται στον Πίνακα Ταυτοποίησης στο τέλος αυτού του εσώκλειστου οδηγίου.

ΑΡΧΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η ταινία API 20 NE αποτελείται από 20 μικροσωλήνες που περιέχουν αφυδατωμένα υποστρώματα.

Οι συμβατικές εξετάσεις ενοφθαλμίζονται με ένα βακτηριακό εναιώρημα σε φυσιολογικό ορό, ο οποίο προκαλεί ανασύσταση των υλικών. Κατά τη διάρκεια της επώασης, ο μεταβολισμός προκαλεί χρωματικές μεταβολές που είναι είτε αυτόματες, ή αποκαλύπτονται με την προσθήκη των αντιδραστηρίων.

Οι εξετάσεις αφομοίωσης ενοφθαλμίζονται με ένα ελάχιστο υλικό και τα βακτήρια αναπτύσσονται εάν είναι ικανά να χρησιμοποιήσουν το αντίστοιχο υπόστρωμα.

Οι αντιδράσεις διαβάζονται σύμφωνα με τον Πίνακα Ανάγνωσης και η ταυτοποίηση γίνεται με αναφορά στον Κατάλογο Αναλυτικών Προφίλ ή χρησιμοποιώντας το λογισμικό ταυτοποίησης.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ (Συσκευασία για 25 εξετάσεις)

- 25 ταινίες API 20 NE
- 25 κυτία επώασης
- 25 φύσιγγες API AUX Medium
- 25 φύλλα αποτελεσμάτων
- 1 εσώκλειστο οδηγίου

ΣΥΝΘΕΣΗ

Ταινία

Η σύνθεση της ταινίας API 20 NE δίνεται στον Πίνακα Ανάγνωσης αυτού του εσώκλειστου οδηγίου.

Υλικό

API AUX Medium 7 ml	Θειικό αμμώνιο	2 g
	Άγαρ	1,5 g
	Διάλυμα Βιταμινών	10,5 ml
	Ιχνοστοιχεία	10 ml
	Δισόξινο φωσφορικό νάτριο	6,24 g
	Χλωριούχο κάλιο	1,5 g
	Απιονισμένο ύδωρ για να γίνουν	1000 ml
	Τελικό pH : 7,0-7,2	

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΜΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

Αντιδραστήρια

- API NaCl 0,85 % Medium, 2 ml (Κωδ. 20 070)
- Αντιδραστήρια : JAMES (Κωδ. 70 542)
NIT 1 + NIT 2 (Κωδ. 70 442)
Zn (Κωδ. 70 380)
- Oxidase (Κωδ. 55 635*)
* κωδικός είδους που δεν πωλείται σε ορισμένες χώρες : χρησιμοποιήστε ένα αντίστοιχο αντιδραστήριο.
- Mineral oil (Κωδ. 70 100)
- McFarland Standard (Κωδ. 70 900) No. 0,5
- Κατάλογος Αναλυτικών Προφίλ API 20 NE (Κωδ. 20 090) ή Λογισμικό ταυτοποίησης **apiweb™** (Κωδ. 40 011) (συμβουλευθείτε την bioMérieux)

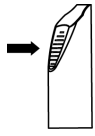
Υλικά

- Πιπέττες ή PSIpettes
- Προστατευτική συσκευή φυσίγγων
- Εσχάρα για φύσιγγες
- Γενικός μικροβιολογικός εργαστηριακός εξοπλισμός

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Για *in vitro* διαγνωστική χρήση και μικροβιολογικό έλεγχο.
- Αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση.
- Αυτή η συσκευασία περιέχει προϊόντα ζωικής προέλευσης. Πιστοποιημένη γνώση της προέλευσης ή/και της υγειονομικής κατάστασης των ζώων δεν εγγυάται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα προϊόντα να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μην λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).
- Όλα τα δείγματα, οι μικροβιακές καλλιέργειες και τα ενοφθαλμισμένα προϊόντα θα πρέπει να θεωρούνται μολυσματικά και να αντιμετωπίζονται καταλλήλως. Άσηπτες τεχνικές και οι συνήθεις προφυλάξεις χειρισμού για τη μελετώμενη βακτηριακή ομάδα θα πρέπει να τηρούνται σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας. Αναφερθείτε στο έγγραφο "CLSI, *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Τρέχουσα αναθεώρηση". Για πρόσθετες προφυλάξεις κατά το χειρισμό, αναφερθείτε στο "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Τελευταία έκδοση", ή στους ισχύοντες κανονισμούς κάθε χώρας.
- Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης.
- Πριν από τη χρήση, βεβαιωθείτε ότι η συσκευασία και τα περιεχόμενα είναι άθικτα.
- Μη χρησιμοποιείτε ταινίες οι οποίες παρουσιάζουν φθορές : παραμορφωμένα κυπέλια, κλπ.

- Ανοίξτε τις φύσιγγες προσεκτικά ως εξής :
 - Τοποθετήστε την φύσιγγα στην προστατευτική συσκευή.
 - Κρατήστε την προστατευμένη φύσιγγα με το ένα χέρι σε κάθετη θέση (το λευκό πλαστικό κάλυμμα προς τα πάνω).
 - Πιέστε το κάλυμμα προς τα κάτω για όσο μεγαλύτερη απόσταση γίνεται.
 - Τοποθετήστε το ρύγχος στο ραβδωτό τμήμα του καλύμματος και πιέστε προς τα εμπρός για να αφαιρέσετε σπάζοντας την κορυφή της φύσιγγας.
 - Βγάλτε την φύσιγγα από την προστατευτική συσκευή και φυλάξτε την προστατευτική συσκευή για επόμενη χρήση.
 - Προσεκτικά αφαιρέστε το κάλυμμα.
- Τα δεδομένα απόδοσης της μεθόδου που παρουσιάζονται ελήφθησαν ακολουθώντας τη διαδικασία η οποία περιγράφεται σε αυτό το εσωκλειστο οδηγίων. Οποιαδήποτε αλλαγή ή τροποποίηση της διαδικασίας μπορεί να επηρεάσει τα αποτελέσματα.
- Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της εξέτασης πρέπει να γίνεται λαμβάνοντας υπόψη το ιστορικό του ασθενή, την προέλευση του δείγματος, τη μορφολογία των αποικιών και τη μικροσκοπική εικόνα του στελέχους και, αν χρειάζεται, τα αποτελέσματα από όποιες άλλες εξετάσεις έχουν πραγματοποιηθεί, ιδιαίτερα τις εξετάσεις ευαισθησίας στα αντιμικροβιακά.



ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΦΥΛΑΞΗΣ

Οι ταινίες και τα υλικά πρέπει να φυλάσσονται στους 2-8°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ (ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ)

Το API 20 NE δεν προορίζεται για απευθείας χρήση με κλινικά ή άλλα δείγματα.

Οι μικροοργανισμοί προς ταυτοποίηση πρέπει πρώτα να απομονωθούν σε κατάλληλο υλικό καλλιέργειας (π.χ., Άγαρ Τρυπτική Σόγια) σύμφωνα με πρότυπες μικροβιολογικές τεχνικές.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Εξέταση οξειδάσης

Η εξέταση οξειδάσης πρέπει να διεξάγεται σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης του κατασκευαστή. Το αποτέλεσμα πρέπει να καταγράφεται στο φύλλο αποτελεσμάτων καθώς αποτελεί αναπόσπαστο τμήμα του τελικού προφίλ (21η εξέταση ταυτοποίησης).

Επιλογή αποικιών

Το API 20 NE θα πρέπει να χρησιμοποιείται αποκλειστικά σε μη-απαιτητικά Gram-αρνητικά βακτηρίδια τα οποία δεν ανήκουν στα *Enterobacteriaceae*.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ 1: Μερικά μη-εντεροβακτηριακά Gram-αρνητικά βακτηρίδια είναι οξειδάση αρνητικά (*S. maltophilia*, *Acinetobacter*...). Αυτοί οι μικροοργανισμοί μπορούν επίσης να ταυτοποιηθούν με API 20 NE αλλά η επιλογή τους πρέπει να βασίζεται σε άλλα βακτηριολογικά ή κλινικά κριτήρια.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ 2: Απαιτητικοί οργανισμοί που έχουν ιδιαίτερες θρεπτικές απαιτήσεις και απαιτούν κατάλληλες προφυλάξεις χειρισμών (δηλ. *Brucella* και *Francisella*) δεν περιλαμβάνονται στη βάση δεδομένων του API 20 NE. Πρέπει να χρησιμοποιούνται εναλλακτικές διαδικασίες για να αποκλειστεί ή να επιβεβαιωθεί η παρουσία τους.

Προετοιμασία της ταινίας

- Προετοιμάστε ένα κυτίο επώασης, δίσκος και κάλυμμα, και διανείμετε περίπου 5 ml απεσταγμένου ή απιονισμένου ύδατος [ή οποιοδήποτε ύδατος χωρίς πρόσθετα ή χημικά που μπορεί να απελευθερώσουν αέρια (π.χ. Cl₂, CO₂, κτλ.)] στο κάτω μέρος του δίσκου για να δημιουργήσετε μια υγρή ατμόσφαιρα.
- Καταγράψτε τον κωδικό του δείγματος στο επίμηκες πτερύγιο του δίσκου. (Μην καταγράφετε τον κωδικό στο κάλυμμα διότι μπορεί να τοποθετηθεί λανθασμένα κατά τη διάρκεια της διαδικασίας).
- Αφαιρέστε την ταινία από την ατομική της συσκευασία.
- Τοποθετήστε την ταινία στο κυτίο επώασης.

Προετοιμασία του εναιωρήματος

- Ανοίξτε μια φύσιγγα API NaCl 0,85 % Medium (2 ml) όπως υποδεικνύεται στην παράγραφο "Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις" του εσωκλειστού οδηγίων για αυτό το προϊόν, ή χρησιμοποιήστε οποιοδήποτε σωληνάριο που περιέχει 2 ml φυσιολογικού ορού 0,85 % χωρίς πρόσθετα.
- Χρησιμοποιώντας μια πιπέττα ή PSIpette, συλλέξτε 1-4 αποικίες πανομοιότυπης μορφολογίας από το τρυβλίο άγαρ, είτε με αναρρόφηση ή με διαδοχικές συλλογές. Συνιστάται να χρησιμοποιείτε νέες καλλιέργειες (18-24 ωρών).
- Προετοιμάστε ένα εναιώρημα με θολερότητα ισοδύναμη με 0,5 McFarland. Το εναιώρημα αυτό πρέπει να χρησιμοποιηθεί αμέσως μετά την προετοιμασία.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ : Είναι πολύ σημαντικό η πυκνότητα του εναιωρήματος να προσαρμόζεται σε 0,5 McFarland. Οι εξετάσεις της ταινίας API 20 NE μπορεί σε άλλη περίπτωση να μη λειτουργήσουν σωστά. Συγκεκριμένα, ένα πιο αδύναμο εναιώρημα μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα. Μην αγγίζετε τα κυπέλια ενώ εργάζεστε με την ταινία και μην αφήνετε την ταινία εκτεθειμένη στον αέρα για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά τον ενοφθαλμισμό.

Ενοφθαλμισμός της ταινίας

- Ενοφθαλμίστε τις εξετάσεις NO₃ έως PNPG διανέμοντας το εναιώρημα φυσιολογικού ορού στα σωληνάκια (και όχι στα κυπέλια) χρησιμοποιώντας την ίδια πιπέττα. Για να αποφύγετε τον σχηματισμό φυσαλίδων στη βάση των σωληναρίων, γείρετε την ταινία ελαφρώς προς τα εμπρός και τοποθετήστε το ρύγχος της πιπέττας ή PSIpette στο πλαϊνό μέρος του κυπέλιου.
- Ανοίξτε μια φύσιγγα API AUX Medium όπως υποδεικνύεται στην παράγραφο "Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις" και προσθέστε περίπου 200 μl του εναιωρήματος φυσιολογικού ορού, που παραμένει στην φύσιγγα. Ομογενοποιήστε καλά με την πιπέττα, αποφεύγοντας τον σχηματισμό φυσαλίδων.
- Γεμίστε τα σωληνάκια και τα κυπέλια των εξετάσεων [GLU] έως [PAC] με το εναιώρημα. Φροντίστε να αφήσετε ένα επίπεδο ή ελαφρώς κυρτό, αλλά όχι κοίλο μηνίσκο. Κυπέλια ανεπαρκώς ή υπερβολικά γεμισμένα μπορεί να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα.

- Προσθέστε παραφινέλαιο στα κυπέλια των 3 υπογραμμισμένων εξετάσεων (GLU, ADH και URE) μέχρι να σχηματισθεί ένας κοίλος μηνίσκος.
- Κλείστε το κυτίο επώασης και επώαστε στους 29°C ± 2°C για 24 ώρες (± 2 ώρες).

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Ανάγνωση της ταινίας

- Μετά την περίοδο επώασης, διαβάστε την ταινία με βάση τον Πίνακα Ανάγνωσης.
- Καταγράψτε όλες τις αυτόματες αντιδράσεις (GLU, ADH, URE, ESC, GEL και PNPG) στο φύλλο αποτελεσμάτων.
- Η ανάγνωση των δύο εξετάσεων NO₃ και TRP θα πρέπει να εκτελείται ενώ προστατεύονται οι εξετάσεις αφομοίωσης από την μεταφερόμενη δια του αέρα επιμόλυνση. Για να το κάνετε αυτό, καλύψτε τις εξετάσεις αφομοίωσης με το καπάκι του κυτίου επώασης κατά τη διάρκεια της ανάγνωσης των εξετάσεων NO₃ και TRP.

• Εξέταση NO₃ :

- Προσθέστε 1 σταγόνα του αντιδραστήριου NIT 1 και 1 σταγόνα του αντιδραστήριου NIT 2 στο κυπέλιο NO₃.
- Μετά από 5 λεπτά, ένα **ερυθρό** χρώμα υποδηλώνει μια **θετική** αντίδραση προς καταγραφή στο φύλλο αποτελεσμάτων.
- Μια αρνητική αντίδραση μπορεί να προκύψει εξαιτίας της παραγωγής αζώτου (υποδηλώνεται από την παρουσία μικροσκοπικών φυσαλίδων): προσθέστε 2-3 mg του αντιδραστήριου Zn στο κυπέλιο NO₃.
- Μετά από 5 λεπτά, το κυπέλιο που παραμένει **άχρωμο** υποδηλώνει μια **θετική** αντίδραση προς καταγραφή στο φύλλο αποτελεσμάτων. Αν το κυπέλιο γίνει **ρόδινο-ερυθρό**, η αντίδραση είναι **αρνητική** καθώς τα νιτρικά που βρίσκονταν στο σωληνάριο ανάγονται σε νιτρώδη από τον ψευδάργυρο.

Η αντίδραση που χρησιμοποιήθηκε για την ταυτοποίηση του βακτηρίου είναι η αναγωγή των νιτρικών. Είναι θετική όταν κάποια από τις παραπάνω αντιδράσεις (παραγωγή του NO₂ ή N₂) είναι θετική.

Η παραγωγή του N₂ μπορεί, εντούτοις, να είναι χρήσιμη από μόνη της ως μια συμπληρωματική εξέταση (αναφερθείτε στον Κατάλογο Αναλυτικών Προφίλ).

• Εξέταση TRP:

Προσθέστε 1 σταγόνα αντιδραστήριου JAMES. Η αντίδραση λαμβάνει χώρα αμέσως: ένα **ρόδινο** χρώμα το οποίο αναπτύσσεται σε ολόκληρο το κυπέλιο υποδηλώνει μια **θετική** αντίδραση προς καταγραφή στο φύλλο αποτελεσμάτων.

• Εξετάσεις αφομοίωσης :

Παρατηρείστε την βακτηριακή ανάπτυξη. Ένα **θολερό** κυπέλιο υποδηλώνει μια **θετική** αντίδραση.

Περιστασιακά, ένα κυπέλιο μπορεί να δείξει ασθενή ανάπτυξη. Σε αυτή την περίπτωση, τα αποτελέσματα θα πρέπει να καταγράφονται ως \mp ή \pm συγκρίνοντας την πυκνότητα αυτή με εκείνη των άλλων εξετάσεων στην ταινία.

Μόλις γίνουν αυτές οι αναγνώσεις, η ταυτοποίηση θα πρέπει να είναι εφικτή όπως αναγράφεται στην παράγραφο "Ερμηνεία".

Η επανεπώαση είναι απαραίτητη στις παρακάτω περιπτώσεις:

- χαμηλή διάκριση ;
- μη έγκυρο ή αβέβαιο προφίλ ;
- Αν η ακόλουθη σημείωση παρατίθεται για το προφίλ που προκύπτει:

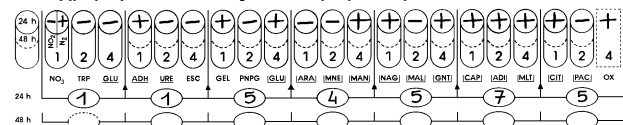
Η ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΔΕΝ ΙΣΧΥΕΙ
ΠΡΙΝ ΑΠΟ 48-ΩΡΗ ΕΠΩΑΣΗ

Χρησιμοποιώντας μια πιπέττα ή PSIpette, αφαιρέστε τα αντιδραστήρια NIT 1, NIT 2 και JAMES με αναρρόφηση και καλύψτε αμέσως τις εξετάσεις NO₃ και TRP με παραφινέλαιο έτσι ώστε να σχηματιστεί ένας κοίλος μηνίσκος. Επαναεπώαστε την ταινία στους 29°C ± 2°C για επιπλέον 24 ώρες και διαβάστε όλες τις εξετάσεις ξανά, εκτός από τις 3 πρώτες (NO₃, TRP και GLU) οι οποίες θα πρέπει να διαβαστούν μόνο μια φορά στις 24 ώρες.

Ερμηνεία

Η ταυτοποίηση προκύπτει με το **αριθμητικό προφίλ**.

- Προσδιορισμός του αριθμητικού προφίλ :
Στο φύλλο αποτελεσμάτων, οι εξετάσεις χωρίζονται σε ομάδες των 3 και για κάθε μια δίνεται τιμή 1, 2 ή 4. Προσθέτοντας τις τιμές οι οποίες αντιστοιχούν σε θετικές αντιδράσεις μέσα σε κάθε ομάδα, προκύπτει ένας 7ψήφιος αριθμός: η αντίδραση οξειδάσης συνιστά την 21η εξέταση και έχει την αξία 4 αν είναι θετική.
- Ταυτοποίηση:
Εκτελείται χρησιμοποιώντας τη βάση δεδομένων (V7.0)
* με τον Κατάλογο Αναλυτικών Προφίλ :
-Αναζητήστε το αριθμητικό προφίλ στον κατάλογο των προφίλ.
* με το λογισμικό ταυτοποίησης **apiweb™** :
-Εισάγετε το 7ψήφιο αριθμητικό προφίλ χειροκίνητα χρησιμοποιώντας το πληκτρολόγιο.



ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Τα υλικά και οι ταινίες υποβάλλονται συστηματικά σε ποιοτικό έλεγχο σε διάφορα στάδια της παραγωγής τους.

Εκλογικευμένος ποιοτικός έλεγχος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να επιβεβαιωθεί η αποδεκτή απόδοση του συστήματος API 20 NE μετά τη μεταφορά/φύλαξη. Η μεθοδολογία αυτή μπορεί να εφαρμοστεί ακολουθώντας τις παραπάνω οδηγίες για την εξέταση και συμφωνώντας με τα κριτήρια που δηλώνονται στο CLSI M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems. (Ποιοτικός Έλεγχος για Εμπορικά Συστήματα Μικροβιακής Ταυτοποίησης).

Καθώς δεν υπάρχουν υποστρώματα που είναι σταθερά ευαίσθητα στην αποδόμηση κατά τις συνθήκες μεταφοράς, ο εκλογικευμένος ποιοτικός έλεγχος μπορεί να διεξαχθεί εξετάζοντας δύο στελέχη: **Aeromonas hydrophila ATCC® 35654** που είναι κυρίως θετικό και **Alcaligenes faecalis ATCC 35655** που είναι κυρίως αρνητικό για αντιδράσεις στις εξετάσεις του συστήματος API 20 NE.

Για εκείνους τους χρήστες που τους ζητείται να διεξάγουν **αναλυτική εξέταση ποιοτικού ελέγχου** με την ταινία, θα πρέπει να εξετάζονται τα τέσσερα παρακάτω στελέχη για να εκδηλώνετε θετική και αρνητική αντιδραστικότητα για τις περισσότερες από τις εξετάσεις API 20 NE.

- | | | | |
|--------------------------------|------------|---------------------------------------|------------|
| 1. <i>Aeromonas hydrophila</i> | ATCC 35654 | 3. <i>Sphingobacterium multivorum</i> | ATCC 35656 |
| 2. <i>Alcaligenes faecalis</i> | ATCC 35655 | 4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 |

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	[GLU]	[ARA]	[MNE]	[MAN]	[NAG]	[MAL]	[GNT]	[CAP]	[ADI]	[MLT]	[CIT]	[PAC]	OX
1.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-*	-	+
2.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
3.	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
4.	+	-	-	V	V	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+

* Μπορεί να προκύψουν ασθενείς αντιδράσεις.

Προφίλ για τις εξετάσεις ADH έως PAC προέκυψαν μετά από 48 ώρες επώασης μετά από καλλιέργεια των αποικιών σε Άγαρ Τρυπτική Σόγια.

Αποτελεί ευθύνη του χρήστη να διεξάγει τον Ποιοτικό Έλεγχο σύμφωνα με τους εκάστοτε τοπικούς ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΜΕΘΟΔΟΥ

- Το σύστημα API 20 NE προορίζεται μοναδικά για την ταυτοποίηση εκείνων των μη-απαιτητικών, μη-εντεροβακτηριακών Gram-αρνητικών βακτηριδίων που συμπεριλαμβάνονται στη βάση δεδομένων (δείτε τον Πίνακα Ταυτοποίησης στο τέλος αυτού του εσώκλειστου οδηγίου). Δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ταυτοποιήσει οποιοσδήποτε άλλους μικροοργανισμούς ή για να αποκλείσει την παρουσία τους.
- Τα μη ζυμωτικά Gram-αρνητικά βακτηρίδια, που έχουν απομονωθεί από ασθενείς με κυστική ίνωση μπορεί να δημιουργήσουν μη τυπικά βιοχημικά προφίλ, τα οποία μπορεί να επηρεάσουν την ταυτοποίηση.
- Μόνον καθαρές καλλιέργειες αποκλειστικά ενός οργανισμού πρέπει να χρησιμοποιηθούν.

ΕΥΡΟΣ ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Συμβουλευτείτε τον Πίνακα Ταυτοποίησης στο τέλος αυτού του εσώκλειστου οδηγίου για το εύρος των αναμενόμενων αποτελεσμάτων για τις διάφορες βιοχημικές αντιδράσεις.

ΑΠΟΔΟΣΗ

Εξετάστηκαν 5728 στελέχη συλλογής και στελέχη διάφορων προελεύσεων που ανήκουν σε είδη που συμπεριλαμβάνονται στη βάση δεδομένων:

- 92,53 % των στελεχών ταυτοποιήθηκαν σωστά (με ή χωρίς συμπληρωματικές εξετάσεις).
- 3,13 % των στελεχών δεν ταυτοποιήθηκαν.
- 4,34 % των στελεχών ταυτοποιήθηκαν λανθασμένα.

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Οι μη χρησιμοποιημένες φύσιγγες API AUX Medium μπορούν να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα.

Απορρίψτε όλα τα χρησιμοποιημένα ή μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια (άλλα από τις φύσιγγες API AUX Medium) καθώς και οποιαδήποτε άλλα επιμολυσμένα αναλώσιμα υλικά ακολουθώντας τις διαδικασίες για μολυσματικά ή δυνητικώς μολυσματικά προϊόντα.

Αποτελεί ευθύνη κάθε εργαστηρίου να αντιμετωπίζει τα απόβλητα και τα υγρά εκροής που παράγονται, σύμφωνα με τον τύπο και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΝΑΓΝΩΣΗΣ

ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ	ΔΡΑΣΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	ΠΟΣ. (mg/κυττ)	ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ/ΕΝΖΥΜΑ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
				ΑΡΝΗΤΙΚΑ	ΘΕΤΙΚΑ
NO ₃	νιτρικό κάλιο	0,136	αναγωγή νιτρικών σε νιτρώδη	NIT 1 + NIT 2 / 5 λεπτά άχρωμο ρόδινο-ερυθρό	
			αναγωγή νιτρικών σε άζωτο	Zn / 5 λεπτά ρόδινο άχρωμο	
TRP	L-τρυπτοφάνη	0,2	παραγωγή ινδόλης (Τρυπτοφάνη)	JAMES / αυτόματη άχρωμο απαλό πράσινο / κίτρινο ρόδινο	
GLU	D-γλυκόζη	1,92	ζύμωση (Γλυκόζης)	κυανό προς πράσινο	κίτρινο
ADH	L-αργινίνη	1,92	Διυδρολάση της Αργινίνης	κίτρινο	πορτοκαλί / ρόδινο / ερυθρό
URE	ουρία	0,76	ουρεάση	κίτρινο	πορτοκαλί / ρόδινο / ερυθρό
ESC	εσκουλίνη ferric citrate	0,56 0,072	υδρόλυση (β-γλυκοζιδάση) (Εσκουλίνη)	κίτρινο	γκρίζο / καφέ / μαύρο
GEL	ζελατίνη (βόειος προέλευση)	0,6	υδρόλυση (πρωτεάση) (Ζελατίνη)	όχι διάχυση χρωστικής	διάχυση μαύρης χρωστικής
PNPG	4-νιτροφαινύλ-βD-γαλακτοπιυρανοζιδή	0,22	β-γαλακτοζιδάση (Παρα-Νιτροφαινύλ-βD-Γαλακτοπιυρανοζιδάση)	άχρωμο	κίτρινο
[GLU]	D-γλυκόζη	1,56	αφομοίωση (Γλυκόζη)	διαφανές	θολερό
[ARA]	L-αραβινόζη	1,4	αφομοίωση (Αραβινόζη)	διαφανές	θολερό
[MNE]	D-μαννόζη	1,4	αφομοίωση (Μαννόζη)	διαφανές	θολερό
[MAN]	D-μαννιτόλη	1,36	αφομοίωση (Μαννιτόλη)	διαφανές	θολερό
[NAG]	N-ακετυλο-γλυκοζαμίνη	1,28	αφομοίωση (N-Ακετυλο-Γλυκοζαμίνη)	διαφανές	θολερό
[MAL]	D-μαλτόζη	1,4	αφομοίωση (Μαλτόζη)	διαφανές	θολερό
[GNT]	γλυκονικό κάλιο	1,84	αφομοίωση (Γλυκονικό κάλιο)	διαφανές	θολερό
[CAP]	καπρικό οξύ	0,78	αφομοίωση (Καπρικό οξύ)	διαφανές	θολερό
[ADI]	αδιπικό οξύ	1,12	αφομοίωση (Αδιπικό οξύ)	διαφανές	θολερό
[MLT]	μηλικό οξύ	1,56	αφομοίωση (Μηλικό)	διαφανές	θολερό
[CIT]	trisodium citrate	2,28	αφομοίωση (trisodium CITrate)	διαφανές	θολερό
[PAC]	φαινυλοοξικό οξύ	0,8	αφομοίωση (Φαινυλοοξικό οξύ)	διαφανές	θολερό
OX	(δείτε εσώκλειστο οδηγίων εξέτασης οξειδάσης)	-	οξειδάση κυτοχρώματος	(δείτε εσώκλειστο οδηγίων εξέτασης οξειδάσης)	

- Οι αναγραφόμενες ποσότητες μπορούν να ρυθμίζονται ανάλογα με τον τίτλο των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται.
- Ορισμένα κυπέλλια περιέχουν προϊόντα ζωικής προέλευσης, ειδικά πεπτόνες.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ	σελ. I
ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ	σελ. II
ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΩΝ	σελ. III
ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ	σελ. IV

Η ονομασία bioMérieux, ο κυανός λογότυπος, οι ονομασίες API και **apiweb** αποτελούν χρησιμοποιούμενα, κατατεθειμένα ή/και καταχωρημένα εμπορικά σήματα που ανήκουν στη bioMérieux SA ή μια εκ των θυγατρικών της.

Η ονομασία ATCC αποτελεί εμπορικό σήμα που ανήκει στην American Type Culture Collection.

Οποιαδήποτε άλλη ονομασία ή εμπορικό σήμα είναι ιδιοκτησία του αντίστοιχου ιδιοκτήτη.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 599
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Εκτυπώθηκε στη Γαλλία



Identifieringssystem för icke krävande, icke enteriska Gramnegativa stavar

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

API 20 NE är ett standardiserat system för identifiering av icke krävande, icke enteriska Gramnegativa stavar (t.ex. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc.), vilket kombinerar 8 konventionella tester, 12 assimilationstester och en databas. En fullständig lista över de organismer som är möjliga att identifiera med detta system återfinns i Identifieringstabellen, i slutet av denna bipacksedel.

METOD

API 20 NE strips består av 20 mikrobrunnar innehållande dehydrerade substrat.

De konventionella testerna inokuleras med en salt- och bakteriesuspension, vilket rekonstituerar mediet. Under inkubationen framkallar metabolismen färgförändringar, som antingen är spontana eller avslöjas genom tillsats av reagenser.

Assimilationstesterna inokuleras med ett minimalmedium och bakterierna tillväxer om de förmår utnyttja motsvarande substrat.

Reaktionerna avläses i enlighet med Avläsningstabellen och identifiering görs med hjälp av Analytical Profile Index, eller med hjälp av identifieringsprogrammet.

KITETS INNEHÅLL (Kit för 25 tester)

- 25 API 20 NE strips
- 25 inkubationsboxar
- 25 ampuller med API AUX Medium
- 25 rapportblad
- 1 bipacksedel

INNEHÅLLSDEKLARATION

Stripset

API 20 NE-stripsets innehåll framgår av Avläsningstabellen i denna bipacksedel.

Medium

API AUX Medium 7 ml	Ammoniumsulfat	2 g
	Agar	1,5 g
	Vitaminlösning	10,5 ml
	Spårelement	10 ml
	Mononatriumfosfat	6,24 g
	Kaliumklorid	1,5 g
	Avmineraliserat vatten	upp till 1000 ml
	Slutligt pH: 7,0-7,2	

REAGENSER OCH NÖDVÄNDIGT MATERIAL (SOM INTE MEDFÖLJER)

Reagenser

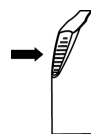
- API NaCl 0,85 % Medium, 2 ml (Art.nr. 20 070)
- Reagenser: JAMES (Art.nr. 70 542)
NIT 1 + NIT 2 (Art.nr. 70 442)
Zn (Art. 70 380)
- Oxidas (Art.nr. 55 635*)
* produkten säljs inte i vissa länder: använd ett motsvarande reagens
- Mineralolja (Art.nr. 70 100)
- McFarland Standard (Art.nr 70 900) nr 0,5
- API 20 NE Analytical Profile Index (Art.nr. 20 090) eller **apiweb™** programvara för identifiering (Art.nr 40 011) (kontakta bioMérieux)

Material

- Pipetter eller PSIpettes
- Ampullskydd
- Ampullställ
- Allmän utrustning för mikrobiologiskt laboratorium

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- **Används för *in vitro*-diagnostik och mikrobiologisk kontroll.**
- **Endast för professionell användning.**
- Detta kit innehåller produkter av animaliskt ursprung. Certifierade data angående ursprunget och/eller hälsotillståndet hos djuren garanterar inte total frånvaro av överförbara patogena agens. Vi rekommenderar därför att dessa produkter behandlas som potentiellt infektiösa och handhas enligt sedvanliga försiktighetsåtgärder (ska inte förtäras eller inandas).
- Alla prover, odlingar av mikroorganismer och inokulerade produkter skall anses infektiösa och behandlas på ett lämpligt sätt. Sterilteknik och sedvanliga försiktighetsåtgärder för att handha den speciella gruppen av bakterier skall iaktas under hela proceduren. Se "CLSI M29A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* - Nuvarande upplaga". För ytterligare information angående försiktighetsåtgärder vid hantering, se "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories - CDC/NIH - Senaste upplaga", eller de f.n. gällande reglerna i det aktuella landet.
- Använd inte reagenser efter sista förbrukningsdatum.
- Kontrollera före användning att förpackning och komponenter är intakta.
- Använd inte strips som har blivit skadade: med deformerade kupoler, etc.
- Öppna ampullerna försiktigt enligt följande:
 - Placera ampullen i ampullskyddet.
 - Håll den skyddade ampullen i vertikal position med en hand (det vita plastlocket uppåt).
 - Tryck ner locket så långt som möjligt.
 - Placera tumspetsen på den räfflade delen av locket och pressa framåt för att bryta av ampulltoppen.
 - Ta ut ampullen från ampullskyddet och lägg skyddet åt sidan för senare användning.
 - Ta försiktigt av locket.
- Data angående prestanda som presenterats har uppnåtts med hjälp av den metod som anges i denna bipacksedel. Varje ändring i utförandet kan påverka resultaten.
- Tolkningen av testresultaten skall göras med hänsyn till patientens anamnes, provkällan, kolonial och mikroskopisk morfologi hos stammen och, om nödvändigt, resultaten av andra utförda tester, speciellt antibiotikakänslighet.



FÖRVARING

Strips och medier bör förvaras vid 2-8°C fram till sista förbrukningsdatum som anges på förpackningen.

PROVER (INSAMLING OCH PREPARERING)

API 20 NE är inte avsett för direkt användning med kliniska eller andra prover.

Mikroorganismerna som ska identifieras måste först isoleras på ett lämpligt medium (t.ex. Tryptikas-sojaagar) i enlighet med standardiserade mikrobiologiska tekniker.

BRUKSANVISNING

Oxidastest

Oxidastestet måste utföras enligt tillverkarens bruksanvisningar. Resultatet ska antecknas på rapportbladet eftersom det utgör en väsentlig del av den slutliga profilen (21:a identifieringssteget).

Val av kolonier

API 20 NE ska enbart användas med icke krävande gramnegativa stavar som inte tillhör *Enterobacteriaceae*.

ANM 1: Vissa icke enteriska gramnegativa stavar är oxidastnegativa (*S. maltophilia*, *Acinetobacter*, *m.fl.*). Dessa mikroorganismer kan identifieras med API 20 NE men urvalet av dem ska baseras på andra bakteriologiska eller kliniska kriterier.

ANM 2: Krävande organismer som har speciella behov av näring och som ska handhas på speciellt sätt (t.ex. *Brucella* och *Francisella*) är inte inkluderade i API 20 NE-databasen. För att utesluta eller bekräfta deras närvaro behövs andra metoder.

Preparering av stripset

- Gör i ordning en inkubationsbox (platta och lock) och fördela ca 5 ml destillerat vatten eller avmineraliserat vatten [eller bara vatten utan tillsatser och kemikalier som kan utveckla gaser (t.ex. Cl₂, CO₂, etc.)] i håligheterna på plattan för att skapa en fuktig atmosfär.
- Anteckna stambeteckningen på den förlängda fliken på plattan. (Anteckna inte beteckningen på locket eftersom det kan komma att förläggas under arbetet).
- Ta ut stripset ur dess förpackning.
- Placera stripset i inkubationsboxen.

Preparering av inokulatet

- Öppna en ampull med API NaCl 0,85 % Medium (2 ml) som beskrivet i avsnittet "Försiktighetsåtgärder" i bipacksedeln för denna produkt, eller använd ett rör med 2 ml 0,85 % fysiologisk saltlösning utan tillsatser.
- Använd en pipett eller PSlpett för att plocka upp 1-4 kolonier med identisk morfologi från agarplattan, antingen genom sugning eller upprepade plockningar. Det rekommenderas att använda av unga kulturer (18 – 24 timmar gamla).
- Bered en suspension med en turbiditet motsvarande 0,5 McFarland. Suspensionen måste användas omedelbart efter beredning.

OBS: Det är mycket viktigt att densiteten hos inokulum kan justeras till 0,5 McFarland. API 20 NE-stripsen kan annars komma att fungera inkorrekt. Särskilt ett svagare inokulum kan leda till falska negativa resultat. Vidrör inte kupolerna under arbetet med stripset och låt inte stripset exponeras för luft någon längre tid efter inokulering.

Inokulering av stripset

- Inokulera testerna NO₃ till PNPG genom att fördela saltlösningen i brunnarna (och inte i kupolerna). Använd samma pipett. Det är viktigt att undvika bubbelbildning på brunnsbotten. Därför bör man tippa stripset lätt framåt och sätta pipetten, eller PSlpetten mot kanten av kupolen.
- Öppna en ampull med API AUX Medium som beskrivet i avsnittet "Försiktighetsåtgärder" och överför ca 200 µl av den återstående koksaltlösningen till ampullen. Homogenisera försiktigt med pipetten och undvik bubbelbildning.
- Fyll brunnar och kupoler för testerna GLU till PAC med suspensionen. Se till att lämna en platt eller något konvex, men inte konkav, yta. Över- eller underfyllda kupoler kan ge felaktiga resultat.
- Tillsätt mineralolja till kupolerna för de 3 understruktura testerna (GLU, ADH och URE) tills det att en konvex yta bildas.
- Stäng inkubationsboxen och inkubera vid 29°C ± 2°C under 24 timmar (± 2 timmar).

AVLÄSNING OCH TOLKNING

Avläsning av stripset

- Efter inkubationen avläses stripset mot Avläsnings-tabellen.
- Anteckna alla spontana reaktioner (GLU, ADH och URE) på rapportbladet.
- Under avläsning av de två testerna NO₃ och TRP bör assimilationstesterna skyddas mot kontaminering via luften. Detta görs genom att assimilationstesterna täcks över med lådans lock medan NO₃- och TRP-testerna avläses.
- **NO₃-test :**
 - Tillsätt 1 droppe NIT 1- och 1 droppe NIT 2- reagenser till NO₃-kupolen.
 - En **röd** färg efter 5 minuter indikerar en **positiv** reaktion som ska antecknas på rapportbladet.
 - En negativ reaktion kan bero på att nitrogen bildas (närvaro indikeras av små bubblor) : tillsätt 2-3 mg. Zn-reagens till NO₃-kupolen.
 - En kupol som förblir **färglös** efter 5 minuter, indikerar en **positiv** reaktion som ska antecknas på rapportbladet. Om kupolen blir **rosa-röd**, är reaktionen **negativ**, eftersom det funnits nitrater i brunnen vilka reducerats till nitrit av zinken.

Den reaktion som används för bakterieidentifieringen är nitratreduktionen. Den är positiv när någon av de ovannämnda reaktionerna (bildandet av NO₂ eller N₂) är positiv.

Om endast N₂ bildas kan detta användas som ett kompletterande test (se vidare i Analytical Profile Index).

TRP-test:

Tillsätt 1 droppe JAMES-reagens. Reaktionen sker omedelbart: En **rosa** färg som utvecklats i hela kupolen indikerar en **positiv** reaktion som ska antecknas på rapportbladet.

• Assimilationstester :

Studera bakterietillväxten. En **opak** kupol indikerar en **positiv** reaktion.

Vid enstaka tillfällen kan en kupol uppvisa svag tillväxt. I så fall ska resultatet antecknas som \mp eller \pm när intensiteten jämförts med den hos de andra testerna på stripset.

Efter dessa avläsningar bör identifieringen gå att utföra, som angivet i avsnittet "Tolkning".

Återinkubera i följande fall:

- Låg diskriminering;
- Oacceptabel eller osäker profil;
- om följande anmärkning visas för den erhållna profilen:

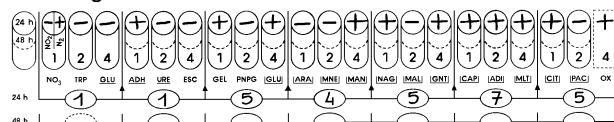
IDENTIFIERING OGILTIG FÖRE 48 TIMMARS INKUBATION

Använd pipett en PSlipett och avlägsna reagenserna NIT 1, NIT 2 och JAMES genom sugning och täck omedelbart testerna NO₃ och TRP med mineralolja så att det bildas en konvex yta. Inkubera stripset vid 29°C ± 2°C i ytterligare 24 timmar och avläs alla testerna igen, med undantag för de första 3 (NO₃, TRP och GLU) vilka bara ska avläsas en gång, efter 24 timmar.

Tolkning

Identifiering görs med hjälp av den **numeriska profilen**.

- Kodning av den numeriska profilen:
På rapportbladet, delas testerna upp i grupper om 3, varpå varje grupp tilldelas ett talvärde: 1, 2 eller 4. Genom att addera de värden som motsvarar positiva reaktioner, erhålls ett 7-siffrigt tal. Oxidasreaktionen utgör det 21:a testet och har värdet 4 om det är positivt.
- Identifiering:
Denna utförs med hjälp av databasen (V7.0)
* med Analytical Profile Index:
- Leta upp den numeriska profilen i listan över profiler.
* med **apiweb™** identifieringsprogrammet:
- Skriv in den 7-siffriga numeriska profilen via tangentbordet.



1 154 575 Pseudomonas aeruginosa

KVALITETSKONTROLL

Medier och strips kontrolleras systematiskt vid olika steg i tillverkningen.

Rationaliserad kvalitetskontroll (**Streamlined quality control**) kan tillämpas för att bekräfta att API 20 NE-systemet har en acceptabel prestanda efter leverans/lagerhållning. Denna metod kan utföras genom att följa instruktionerna ovan för att testa och uppfylla kriterierna i CLSI M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

Eftersom inga substrat är entydigt känsliga för degradering kan strömlinjeformad kvalitetskontroll utföras genom att testa två stammar : **Aeromonas hydrophila ATCC® 35654**, som mestadels är positiv och **Alcaligenes faecalis ATCC 35655**, som mestadels är negativ för reaktioner på API 20 NE-systemet.

För de användare som måste utföra **omfattande tester för kvalitetskontroll** av stripset bör följande fyra stammar testas för att påvisa positiv och negativ reaktivitet för de flesta av API 20 NE-testerna.

- | | | | |
|--------------------------------|------------|---------------------------------------|------------|
| 1. <i>Aeromonas hydrophila</i> | ATCC 35654 | 3. <i>Sphingobacterium multivorum</i> | ATCC 35656 |
| 2. <i>Alcaligenes faecalis</i> | ATCC 35655 | 4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 |

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	LGLU	LARA	LMNE	LMAN	LNAG	LMAL	LGNT	LCAP	LADI	LMLT	LCIT	LPAC	OX
1.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-*	-	+
2.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
3.	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
4.	+	-	-	V	V	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+

*Svaga reaktioner kan förekomma.

Profiler för testerna ADH till PAC som erhållits efter 48 timmars inkubation sedan kolonierna har odlats på Tryptikas-sojaagar.

Det är användarens ansvar att utföra kvalitetskontroll i enlighet med de lokalt tillämpliga bestämmelserna.

METODENS BEGRÄNSNINGAR

- API 20 NE-systemet är uteslutande avsett för identifiering av de icke-krävande, icke enteriska, Gramnegativa stavar som ingår i databasen (se Identifieringstabellen i slutet av denna bipacksedel). Det kan inte användas för identifiering av andra mikroorganismer eller för att utesluta deras närvaro.
- Icke-fermenterande, gramnegativa stavar, isolerade från patienter med cystisk fibros kan generera atypiska biokemiska profiler som kan påverka identifieringen.
- Endast rena kulturer från en enda organism bör användas.

FÖRVÄNTADE RESULTAT

Intervall för de förväntade resultaten för de olika biokemiska reaktionerna framgår av Identifieringstabellen i slutet av denna bipacksedel.

PRESTANDA

5728 kommersiellt tillgängliga stammar och stammar av olika ursprung, tillhörande arter inkluderade i databasen, testades:

- 92,53% av stammarna blev korrekt identifierade (med eller utan kompletterande tester).
- 3,13% av stammarna identifierades inte.
- 4,34% av stammarna blev felidentifierade.

AVFALLSHANTERING

Oanvända API AUX Medium ampuller kan anses som icke-farligt avfall och kan avlägsnas därefter.

Avfallshantering av använda eller oanvända reagenser (förutom API AUX Medium ampullerna), liksom av andra kontaminerade engångsmaterial, ska ske i enlighet med procedurer för infektiösa eller potentiellt infektiösa produkter.

Det är varje laboratoriums ansvar att handha avfalls- och avloppsprodukter efter typ och farlighetsgrad och behandla och avlägsna dem (eller få dem behandlade och avlägsnade) i enlighet med alla tillämpliga föreskrifter.

AVLÄSNINGSTABELL

TESTER	AKTIVA INGREDIENSER	MGD (mg/kup.)	REAKTIONER/ENZYMER	RESULTAT	
				NEGATIVT	POSITIVT
NO ₃	kaliumnitrat	0,136	reduktion av nitrater till nitriter	NIT 1 + NIT 2 / 5 min färglös rosaröd	
			reduktion av nitrater till nitrogener	Zn / 5 min rosa färglös	
TRP	L-tryptofan	0,2	indolbildning (TRyptofan)	JAMES / omedelbar färglös svagt grön / gul rosa	
GLU	D-glukos	1,92	jäsning (GLUkos)	blå till grön	gul
ADH	L-arginin	1,92	Arginin DiHydrolas	gul	orange / rosa / röd
URE	urinämne	0,76	UREas	gul	orange / rosa / röd
ESC	esculin järncitrat	0,56 0,072	hydrolys (β-glukosidas) (ESCulin)	gul	grå / brun / svart
GEL	gelatin (av nöt)	0,6	hydrolys (proteas) (GELatin)	ingen pigment-diffusion	diffusion av svart pigment
PNPG	4-nitrofenyl-βD-galaktopyranosid	0,22	β-galaktosidas (Para-NitroPhenyl-βD-galaktopyranosidas)	färglös	gul
[GLU]	D-glukos	1,56	assimilation (GLUkos)	transparent	opak
[ARA]	L-arabinos	1,4	assimilation (ARAbinos)	transparent	opak
[MNE]	D-mannos	1,4	assimilation (ManNos)	transparent	opak
[MAN]	D-mannitol	1,36	assimilation (MaNnitol)	transparent	opak
[NAG]	N-acetyl-glukosamin	1,28	assimilation (N-Acetyl-Glukosamin)	transparent	opak
[MAL]	D-maltos	1,4	assimilation (MALtos)	transparent	opak
[GNT]	kaliumpulkonat	1,84	assimilation (kaliumpulkoNat)	transparent	opak
[CAP]	kaprinsyra	0,78	assimilation (kaprinsyra/CAPric acid)	transparent	opak
[ADI]	adipinsyra	1,12	assimilation (ADIpinsyra)	transparent	opak
[MLT]	äppelsyra	1,56	assimilation (MaLaTe)	transparent	opak
[CIT]	trinatriumcitrat	2,28	assimilation (trinatriumCITrat)	transparent	opak
[PAC]	fenylätticksyra	0,8	assimilation (fenylätticksyra/PhenylACetic acid)	transparent	opak
OX	(se bipacksedel för oxidastest)	-	cytokrom-oxidase	(se bipacksedel för oxidastest)	

- Den angivna mängden kan justeras beroende på titern hos de använda råmaterialen.
- Vissa kupoler innehåller produkter av animaliskt ursprung, i synnerhet peptoner.

METOD	s. I
IDENTIFIERINGSTABELL	s. II
REFERENSLITTERATUR	s. III
SYMBOLER	s. IV

bioMérieux, den blå logotypen, API och **apiweb** är patentsökta och/eller registrerade varumärken som tillhör och används av bioMérieux SA eller något av dess dotterbolag.

ATCC är ett varumärke som tillhör American Type Culture Collection.

Alla andra namn eller varumärken tillhör sina respektive ägare.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Tryckt i Frankrike



Identifikationssystem for ikke-kræsne, ikke-enteriske Gram-negative stave

RESUMÉ OG FORKLARING

API 20 NE er et standardiseret system til identifikation af ikke-kræsne, ikke-enteriske Gram-negative stave (f.eks. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, osv.), der kombinerer 8 konventionelle tests, 12 assimilationstests og en database. Den komplette fortegnelse over de organismer, som kan identificeres med dette system, findes i identifikationstabellen nederst på denne indlægsseddel.

PRINCIP

API 20 NE strip består af 20 mikrorør indeholdende dehydrerede substrater.

De konventionelle tests inokuleres med en saftig bakteriesuspension, som rekonstituerer medierne. Under inkubationen danner metabolismen farveforandringer, der enten er spontane eller afsløres ved tilsætning af reagenser.

Assimilationstestene inokuleres med et minimal-medium, og bakterierne vokser, hvis de er i stand til at udnytte substratet.

Reaktionerne aflæses i henhold til aflæsningstabellen, og identifikationen opnås ved opslag i det analytiske profilindeks eller ved anvendelse af identifikations-softwaren.

KITTETS INDHOLD (SÆT TIL 25-PRØVER)

- 25 API 20 NE strips
- 25 inkubationsæsker
- 25 ampuller med API AUX Medium
- 25 resultatark
- 1 indlægsseddel

SAMMENSÆTNING

Strip

Sammensætningen af API 20 NE strip'en er angivet i aflæsningstabellen på denne indlægsseddel.

Medium

API AUX Medium	Ammoniumsulfat	2 g
7 ml	Agar	1,5 g
	Vitaminopløsning	10,5 ml
	Sporstoffer	10 ml
	Mononatriumfosfat	6,24 g
	Kaliumklorid	1,5 g
	Demineriseret vand	til i alt 1000 ml
	pH : 7.0-7.2	

NØDVENDIGE MEN IKKE MEDFØLGENDE REAGENSER OG MATERIALER

Reagenser

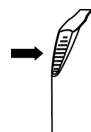
- API NaCl 0,85 % Medium, 2 ml (Ref. 20 070)
- Reagenser: JAMES (Ref. 70 542)
- NIT 1 + NIT 2 (Ref. 70 442)
- Zn (Ref. 70 380)
- Oxidase (Ref. 55 635*)
- * referencen sælges ikke i visse lande :
brug et tilsvarende reagens.
- Mineralsk olie (Ref. 70 100)
- McFarland Standard (Ref. 70 900) Nr. 0,5
- API 20 NE Analytisk Profilindeks (Ref. 20.090) eller **apiweb™** identifikationssoftware (Ref. 40 011) (spørg bioMérieux)

Materiale

- Pipetter eller PSlpetter
- Ampulbeskytter
- Ampulstativ
- Almindeligt laboratorieustyr til mikrobiologi

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- **Til *in-vitro* diagnostisk brug og mikrobiologisk kontrol.**
- **Kun til professionel brug.**
- Dette kit indeholder produkter af animalsk oprindelse. Certificeret kendskab til dyrenes oprindelse og/eller sundhedstilstand er ikke nogen fuldgyltig garanti for, at der ikke er indeholdt nogen overførbare patogener stoffer. Det anbefales derfor, at disse produkter behandles som potentielt smittefarlige og håndteres under iagttagelse af de normale sikkerhedsforanstaltninger (må ikke indtages eller indåndes).
- Alle prøver, bakteriekulturer og podede produkter skal betragtes som smittefarlige og håndteres i overensstemmelse hermed. Der skal anvendes aseptisk teknik og sædvanlige forholdsregler for håndtering af den undersøgte bakteriekultur gennem hele denne procedure. Se venligst "CLSI *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Gældende revision*". For yderligere forsigtighedsforanstaltninger ved håndtering henvises til "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Seneste udgivelse", eller de bestemmelser, der aktuelt anvendes i det enkelte land.
- Reagenserne må ikke anvendes efter udløbsdatoen.
- Kontrollér inden brug, at emballage og komponenter er intakte.
- Brug ikke strips, der er beskadiget: deformerede brønde, etc.
- Åbn forsigtigt ampullerne som følger:
 - Anbring ampullen i ampulbeskytteren.
 - Hold den beskyttede ampul i den ene hånd i lodret stilling (med den hvide plasthætte øverst).
 - Tryk hættens så langt ned som muligt. Anbring spidsen af tommelfingeren på hættens rillede del og tryk udefter for at knække toppen af ampullen.
 - Tag ampullen ud af ampulbeskytteren og læg beskytteren til side til senere brug.
 - Tag forsigtigt hættens af.
- De fremlagte præstationsdata blev fundet ved anvendelse af den procedure, der er angivet på denne indlægsseddel. Enhver ændring eller modifikation af denne procedure kan påvirke resultaterne.
- Ved fortolkning af testresultaterne skal der tages højde for patientens sygehistorie, prøvens kilde, stammens kolonimæssige og mikroskopiske morfologi, samt, om nødvendigt, resultaterne af eventuelle andre udførte prøver, specielt de antibakterielle følsomhedsmønstre.



OPBEVARINGSFORHOLD

Strips og medier skal opbevares ved 2-8°C indtil den udløbsdato, der er angivet på emballagen.

PRØVER (INDSAMLING OG PRÆPARERING)

API 20 NE må ikke bruges direkte sammen med kliniske eller andre prøver.

De mikroorganismer, der skal identificeres, skal først isoleres på et egnet dyrkningsmedium (f.eks. Trypticase sojaagar) i overensstemmelse med normale mikrobiologiske teknikker.

BRUGSANVISNING

Oxidasetest

Oxidasetesten skal udføres ifølge producentens brugsanvisning. Resultatet skal indføres på resultatarket, da det er en integreret del af den endelige profil (21. identifikationstest).

Udvælgelse af kolonier

API 20 NE bør ikke anvendes med ikke-kræsn Gram-negative stave, der ikke tilhører *Enterobacteriaceae*.

BEMÆRKNING 1: Visse non-enteriske Gram-negative stave er oxidase-negative (*S. maltophilia*, *Acinetobacter*...). Disse mikroorganismer kan også identificeres med API 20 NE, men udvælgelsen af dem skal baseres på andre bakteriologiske eller kliniske kriterier.

BEMÆRKNING 2: Kræsn organismer med krævende ernæringskrav, og som kræver særlige håndteringsforanstaltninger (dvs. *Brucella* og *Francisella*) er ikke medtaget i API 20 NE databasen. Der skal anvendes alternative procedurer for at udelukke eller bekræfte deres tilstedeværelse.

Præparering af strip'en

- Præparer en inkubationsæske, bakke og låg, og fordel cirka 5 ml destilleret eller demineraliseret vand [eller eventuelt vand uden tilsætningsstoffer eller kemikalier, der kan frigive gasser (f.eks. Cl₂, CO₂, etc.)] i bunden af bakken for at skabe en fugtig atmosfære.
- Notér prøvenummeret på bakkens forlængede klap. (Notér ikke nummeret på låget, da det kan blive flyttet under proceduren).
- Fjern strip'en fra dens individuelle pakning.
- Anbring strip'en i inkubationsæsken.

Præparering af inokulum

- Åbn en ampul med API NaCl 0,85 % Medium (2 ml) som angivet i afsnittet "Advarsler og forholdsregler" i indlægssedlen for dette produkt eller brug et eller andet rør med 2 ml 0,85 % fysiologisk saltvand uden tilsætninger.
- Opsaml ved hjælp af en pipette eller PSpette 1-4 kolonier af identisk morfologi fra agarpladen, enten ved sugning eller ved gentagne berøringer. Det anbefales at anvende unge kulturer (18-24 timer gamle).
- Præparer en opløsning med en turbiditet svarende til 0,5 McFarland. Denne suspension skal anvendes umiddelbart efter præpareringen.

BEMÆRK: Det er meget vigtigt, at podestoffets densitet justeres til 0,5 McFarland; i modsat fald vil API 20 NE strip test'ene måske ikke fungere korrekt. Især kan et tyndere podestof føre til falsk negative resultater. Berør ikke brøndene, når du arbejder med strip'en og lad ikke strip'en være eksponeret for luft i længere tid efter inokulering.

Inokulation af strip'en

- Inokulér test NO₃ til PNPNG ved at fordele den saltholdige suspension i rørene (og ikke brøndene) ved hjælp af den samme pipette. Vip strip'en lidt fremover og anbring spidsen af pipetten eller PSpetten imod siden af brønden for at undgå, at der dannes bobler i bunden af rørene.
- Åbn en ampul med API AUX Medium som anvist i afsnittet "Advarsler og forholdsregler" og overfør cirka 200 µl af den resterende saltsuspension til ampullen. Homogenisér godt med pipetten og undgå bobledannelse.
- Fyld rørene og brøndene af test'ene [GLU] til [PAC] med suspensionen. Vær omhyggelig med at efterlade en flad eller let konveks overflade (ikke konkav). Brønde, der er under- eller overfyldte, kan give forkerte resultater.
- Tilsæt mineralsk olie til brøndene med de 3 understregede prøver (GLU, ADH og URE), indtil der dannes en konveks overflade.
- Luk inkubationsæsken og inkuber ved 29°C ± 2°C i 24 timer (± 2 timer).

AFLÆSNING OG FORTOLKNING

Aflæsning af strip

- Efter inkubationsperioden aflæses strip'en ved at referere til Aflæsningstabellen.
- Notér alle spontane reaktioner (GLU, ADH, URE, ESC, GEL og PNPNG) på resultatarket.
- Aflæsning af de to tests NO₃ og TRP bør udføres, mens assimilationsprøverne beskyttes mod luftbåren kontamination. Dette gøres ved at tildække assimilationsprøverne med inkubationsæskens låg under aflæsningen af NO₃- og TRP-test'ene.
- **NO₃ test:**
 - Tilsæt 1 dråbe NIT 1 og 1 dråbe NIT 2 reagens til NO₃ brønden.
 - Efter 5 minutter angiver en **rød** farve, at en **positiv** reaktion skal noteres på resultatarket.
 - En negativ reaktion kan skyldes dannelsen af nitrogen (kendetegnet ved tilstedeværelse af bittesmå bobler); Tilsæt 2-3 mg Zn reagens til NO₃ brønden.
 - Efter 5 minutter angiver en brønd, der forbliver **farveløs**, at en **positiv** reaktion skal noteres på resultatarket. Hvis brønden bliver **lyserød**, er reaktionen **negativ**, da røret indeholdt nitrater, som blev reduceret til nitrit af zinken.

Den reaktion, der bruges til identifikation af bakterien, er reduktionen af nitrater. Den er positiv, når en af ovenstående reaktioner (dannelse af NO₂ eller N₂) er positiv.

Dannelsen af N₂ kan imidlertid kun bruges som en supplerende test (se Analytisk Profilindeks).

TRP test:

Tilsæt 1 dråbe JAMES-reagens. Reaktionen sker øjeblikkeligt: En **lyserød** farve, der udvikles i hele brønden, angiver en **positiv** reaktion som skal noteres på resultatarket.

• Assimilationstests :

Observér bakterievæksten. En **uigennemsigtig** brønd angiver en **positiv** reaktion.

Undertiden kan en brønd fremvise svag vækst. I så fald skal resultaterne noteres som \mp eller \pm ved sammenligning af intensiteten med intensiteten af de øvrige tests på strip'en.

Når disse aflæsninger er foretaget, bør identifikation være mulig som anført i afsnittet "Fortolkning".

Reinkubation er nødvendig ved følgende forhold:

- lav diskrimination,
- uacceptabel eller tvivlsom profil,
- hvis følgende bemærkning angives for den opnåede profil :

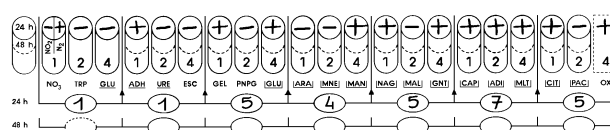
IDENTIFIKATION IKKE GYLDIG
FØR EFTER 48 TIMERS INKUBATION

Fjern NIT 1, NIT 2 og JAMES reagenserne ved sugning med en pipette eller en PSipette og dæk straks NO₃ og TRP test'ene med mineralisk olie, så der dannes en konveks overflade. Reinkubér strip'en ved 29°C ± 2°C i yderligere 24 timer og aflæs alle test'ene igen, undtagen de første 3 (NO₃, TRP og GLU), som kun skal aflæses én gang efter 24 timer.

Fortolkning

Identifikation opnås med den **numeriske profil**.

- Bestemmelse af den numeriske profil :
På resultatarket er testene opdelt i grupper på 3, og et tal, 1,2 eller 4, er angivet for hver. Ved at addere de værdier, der svarer til positive reaktioner inden for hver gruppe, opnås et 7-cifret tal ; oxidasereaktionen udgør den 21. test og har en værdi på 4, hvis den er positiv.
- Identifikation :
Denne udføres ved hjælp af databasen (V7.0)
* med Analytisk Profilindeks :
- Slå den numeriske profil op i fortegnelsen over profiler.
* med **apiweb**™ identifikations-softwaren:
- Indtast den 7-cifrede numeriske profil manuelt via tastaturet.



1 154 575 Pseudomonas aeruginosa

KVALITETSKONTROL

Medier, strips og reagenser kvalitetskontrolleres systematisk på forskellige trin under fremstillingen.

En effektiv kvalitetskontrol kan anvendes til bekræftelse af acceptable præstation af API 20 NE systemet efter levering/opbevaring. Denne metodologi kan udføres ved at følge ovenstående instruktioner for testning og opfyldelse af kriterier angivet i CLSI M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

Da ingen substrater er konsekvent sarte over for nedbrydning under forsendelsen, kan en effektiv kvalitetskontrol blive udført ved at teste to stammer: **Aeromonas hydrophila ATCC® 35654** som overvejende er positiv og **Alcaligenes faecalis ATCC 35655**, som overvejende er negativ for reaktioner med API 50 NE systemet.

For de brugere, som skal udføre **omfattende kvalitetskontroltestning** af strip'en, er det bedst at anvende følgende tre stammer til demonstration af positiv og negativ reaktivitet for de fleste API 20 NE tests.

- | | | | |
|--------------------------------|------------|---------------------------------------|------------|
| 1. <i>Aeromonas hydrophila</i> | ATCC 35654 | 3. <i>Sphingobacterium multivorum</i> | ATCC 35656 |
| 2. <i>Alcaligenes faecalis</i> | ATCC 35655 | 4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 |

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX
1.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-*	-	+
2.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
3.	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
4.	+	-	-	V	V	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+

* Svage reaktioner kan forekomme.

Profiler for testene ADH til PAC opnået efter 48 timers inkubation efter dyrkning af kolonierne på Trypticase sojaagar.

Det er brugerens ansvar at foretage kvalitetskontrol i overensstemmelse med lokalt gældende bestemmelser.

METODENS BEGRÆNSNINGER

- API 20 NE-systemet er udelukkende beregnet til identifikation af de ikke-kræsne, ikke-enteriske Gram-negative stave, der er indeholdt i databasen (se Identifikationstabellen i slutningen af denne indlægsseddel). Det kan ikke benyttes til at identificere nogen andre mikroorganismer eller til at udelukke, at de er til stede.
- Non-fermentative Gram-negative stave, isoleret fra patienter med cystisk fibrose, kan resultere i atypiske biokemiske profiler, hvilket kan påvirke identifikationen.
- Der bør kun anvendes rene kulturer af en enkelt organisme.

FORVENTEDE RESULTATER

Se Identifikationsoversigten i slutningen af denne indlægsseddel for forventede resultater for de forskellige biokemiske reaktioner.

PRÆSTATION

5728 indsamlingsstammer og stammer af forskellig oprindelse, som hører til species, der er inkluderet i databasen, blev testet:

- 92,53 % af stammerne blev korrekt identificeret (med eller uden supplerende tests).
- 3,13 % af stammerne blev ikke identificeret.
- 4,34 % af stammerne blev fejlidentificeret.

BORTSKAFFELSE AF AFFALD

Ikke anvendte ampuller af API AUX Medium kan betragtes som ikke smittefarligt affald og bortskaffes i henhold til dette.

Bortskaf alt brugt eller ubrugt reagens (andet end ampuller af API AUX Medium) samt kontaminerede engangsmaterialer ved at følge procedure for bortskaffelse af infektiøse eller potentielt infektiøse produkter.

Det er ethvert laboratoriums ansvar at håndtere det affald og spildevand, der opstår, i overensstemmelse med dets type og grad af farlighed, og at behandle og bortskaffe det (eller få det behandlet og bortskaffet) i henhold til gældende forskrifter.

AFLÆSNINGSTABEL

TESTS	AKTIVE INDHOLDSSTOFFER	MÆNGDE (mg/brønd)	REAKTIONER/ENZYMER	RESULTATER	
				NEGATIVT	POSITIVT
NO ₃	kaliumnitrat	0.136	reduktion af nitrater til nitritter	NIT 1 + NIT 2 / 5 min farveløs lyserød-rød	
			reduktion af nitrater til nitrogen	Zn / 5 min lyserød farveløs	
TRP	L-tryptofan	0.2	indoldannelse (TRyptOPhane)	JAMES / umiddelbar farveløs lysegrøn / gul lyserød	
GLU	D-glukose	1.92	fermentering (GLUkose)	blå til grøn	gul
ADH	L-arginin	1.92	Arginin DiHydrolase	gul	orange / lyserød / rød
URE	urea	0.76	UREase	gul	orange / lyserød / rød
ESC	esculin ferricitrat	0.56 0.072	hydrolyse (β-glucosidase) (ESCulin)	gul	grå / brun / sort
GEL	gelatine (okse-oprindelse)	0.6	hydrolyse (protease) (GELatine)	ingen pigmentdiffusion	diffusion af sort pigment
PNPG	4-nitrofenyl-βD- galaktopyranosid	0.22	β-galaktosidase (Para-NitroPhenyl-βD- Galactopyranosidase)	farveløs	gul
GLU	D-glukose	1.56	assimilation (GLUcose)	gennemsigtig	uigennemsigtig
ARA	L-arabinose	1.4	assimilation (ARAbinose)	gennemsigtig	uigennemsigtig
MNE	D-mannose	1.4	assimilation (ManNosE)	gennemsigtig	uigennemsigtig
MAN	D-mannitol	1.36	assimilation (MANnitol)	gennemsigtig	uigennemsigtig
NAG	N-Acetyl-glukosamin	1.28	acidifikation (N-Acetyl-Glukosamin)	gennemsigtig	uigennemsigtig
MAL	D-maltose	1.4	assimilation (MALtose)	gennemsigtig	uigennemsigtig
GNT	kaliumpulkonat	1.84	assimilation (kaliumGlukoNat)	gennemsigtig	uigennemsigtig
CAP	kapronsyre	0.78	assimilation (CAPric acid)	gennemsigtig	uigennemsigtig
ADI	adipinsyre	1.12	assimilation (ADipinsyre)	gennemsigtig	uigennemsigtig
MLT	malonsyre	1.56	assimilation (MaLaTe)	gennemsigtig	uigennemsigtig
CIT	trinatriumcitrat	2.28	assimilation (trinatriumCITrat)	gennemsigtig	uigennemsigtig
PAC	fenyleddikesyre	0.8	assimilation (PhenylACetic acid (fenyleddikesyre))	gennemsigtig	uigennemsigtig
OX	(se indlægsseddel til oxidasetest)	-	cytokrom-oxidase	(se indlægsseddel til oxidasetest)	

- De angivne mængder kan justeres, afhængigt af titeren for de anvendte råmaterialer.
- Visse brønde indeholder produkter af animalsk oprindelse, specielt peptoner.

METODE	s. I
IDENTIFIKATIONSTABEL	s. II
LITTERATURHENVISNINGER	s. III
SYMBOLFORTEGNELSE	s. IV

bioMérieux, det blå logo, API og **apiweb** er anvendte, under registrering og/eller registrerede varemærker tilhørende bioMérieux SA eller et af dets datterselskaber.

ATCC er et varemærke tilhørende American Type Culture Collection.

Alle andre handelsnavne eller varemærker er den respektive ejers ejendom.



bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Trykt i Frankrig



Zestaw do identyfikacji Gram-ujemnych, niejelitowych pałeczek, o niewysokich wymaganiach odżywczych

WPROWADZENIE

API 20 NE jest wystandaryzowanym zestawem do identyfikacji Gram-ujemnych, niejelitowych pałeczek, o niewysokich wymaganiach odżywczych (np. *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, itd.), będącym połączeniem 8 testów konwencjonalnych, 12 testów asymilacyjnych i bazy danych. Pełna lista organizmów, które można zidentyfikować przy użyciu tego systemu jest podana na końcu niniejszej instrukcji w Tabeli Identyfikacyjnej.

ZASADA DZIAŁANIA

Paski API 20 NE składają się z 20 mikroprobówek zawierających odwodnione substraty.

Konwencjonalne testy są napełniane zawiesinami bakteryjnymi w soli fizjologicznej, co otwiera podłoże. Procesy metaboliczne zachodzące podczas inkubacji powodują zmiany koloru, które są albo spontaniczne, lub wywołane przez dodanie odczynników.

Testy asymilacji są posiewane podłożem ubogim, a bakterie rosną, jeśli są w stanie wykorzystać odpowiedni substrat.

Po odczytaniu reakcji według Tabeli Odczytów, otrzymuje się identyfikację przez porównanie z Książką Kodów lub stosując program komputerowy.

ZAWARTOŚĆ ZESTAWU (Zestaw na 25 testów)

- 25 pasków API 20 NE
- 25 komór inkubacyjnych
- 25 ampulek API AUX Medium
- 25 kart wyników
- 1 instrukcja

SKŁAD

Pasek

Skład paska API 20 NE podano w tej instrukcji w Tabeli Odczytów.

Podłoże

API AUX Medium 7 ml	Siarczan amonu	2 g
	Agar	1.5 g
	Roztwór witamin	10.5 ml
	Elementy śladowe	10 ml
	Fosforan sodu	6.24 g
	Chlorek potasu	1.5 g
	Woda demineralizowana	do 1000 ml
	Końcowe pH : 7.0-7.2	

WYPOSAŻENIE WYMAGANE NIE NALEŻĄCE DO ZESTAWU

Odczynniki

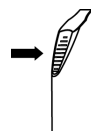
- API NaCl 0.85 % Medium, 2 ml (Ref. 20 070)
- Odczynniki : JAMES (Ref. 70 542)
- NIT 1 + NIT 2 (Ref. 70 442)
- Zn (Ref. 70 380)
- Oksydaza (Ref. 55 635*)
- * produkt nie sprzedawany w niektórych krajach: używać równoważnego odczynnika.
- Olej mineralny (Ref. 70 100)
- Standard McFarlanda (Ref. 70 900) Nr 0.5
- Książka Kodów dla API 20 NE (Ref. 20 090) lub oprogramowanie komputerowe do identyfikacji **apiweb™** (Ref. 40 011) (skontaktuj się z bioMérieux)

Materiały

- Pipety lub PSpipety
- Ostona na ampulkę
- Statyw do ampulek
- Wyposażenie zazwyczaj stosowane w laboratorium mikrobiologicznym

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- **Do diagnostyki *in vitro* i kontroli mikrobiologicznej.**
- **Do wykorzystania wyłącznie przez profesjonalistów.**
- Produkt zawiera materiały pochodzenia zwierzęcego. Świadectwo pochodzenia i/lub stanu sanitarnego zwierząt nie gwarantuje w pełni nieobecności czynników chorobotwórczych. Dlatego należy obchodzić się z nim zgodnie z zasadami postępowania z materiałem potencjalnie zakaźnym (nie spożywać i nie wdychać).
- Wszystkie próbki pobrane od pacjentów, hodowle bakteryjne i wykorzystane produkty są potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane zgodnie z zalecanymi środkami ostrożności. Należy stosować techniki aseptyczne i zwykłe procedury obowiązujące przy pracy ze szczepami bakteryjnymi zgodnie z "CLSI, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* – Bieżąca wersja". Dodatkowe środki ostrożności zawarte są w "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH – Ostatnie wydanie", lub regulowane przepisami właściwymi dla poszczególnych państw.
- Nie używać odczynników przeterminowanych.
- Przed użyciem sprawdzić, czy opakowania poszczególnych składników są nienaruszone.
- Nie używać pasków uszkodzonych : odkształcone studzienki, itd.
- Ampułki otwierać ostrożnie w następujący sposób:
 - Umieścić ampulkę w osłonie.
 - Trzymać osłoniętą ampulkę w jednej ręce w pozycji pionowej (białą plastikową nasadką do góry).
 - Wcisnąć nasadkę do dołu tak daleko jak to możliwe.
 - Umieścić kciuk na wyżłobionej części nasadki i nacisnąć od siebie tak, aby odłamać końcówkę ampulki znajdującą się wewnątrz nasadki.
 - Wyjąć ampulkę z osłony, którą należy odłożyć do kolejnego użycia.
 - Ostrożnie zdjąć nasadkę.
- W celu osiągnięcia odpowiednich wyników należy stosować procedurę zawartą w opakowaniu. Każda modyfikacja procedury może wpływać na wyniki.
- W interpretacji wyników testu należy wziąć pod uwagę historię choroby pacjenta, miejsce pobrania materiału, makro- i mikroskopową morfologię oraz jeśli będzie konieczne, wyniki innych przeprowadzonych testów, szczególnie lekowrażliwości.



PRZECHOWYWANIE

Paski powinny być przechowywane w temperaturze 2-8°C do końca daty ważności podanej na opakowaniu.

MATERIAŁ DO BADAŃ (POBIERANIE I OPRACOWANIE)

Paski API 20 NE nie są przeznaczone do bezpośrednich badań materiału klinicznego lub innych próbek. Identyfikowany mikroorganizm musi być najpierw wyizolowany na właściwym podłożu hodowlanym (np. agar tryptozowo-sojowy) zgodnie ze standardowymi technikami mikrobiologicznymi.

SPOSÓB WYKONANIA

Test na oksydazę

Test na oksydazę należy wykonać zgodnie z instrukcją w nim zawartą. Wynik należy zanotować na karcie wyników, ponieważ stanowi on integralną część ostatecznego profilu (21 test identyfikacyjny).

Wybór kolonii bakteryjnych

Pasek API 20 NE należy używać wyłącznie do Gram-ujemnych pałeczek, o niewysokich wymaganiach odżywczych, nienależących do *Enterobacteriaceae*.

UWAGA 1 : Niektóre niejelitowe pałeczki Gram-ujemne są oksydazo-ujemne (*S. maltophilia*, *Acinetobacter*...). Bakterie te mogą być również zidentyfikowane na pasku API 20 NE, ale ich wybór musi opierać się na innych kryteriach bakteriologicznych lub klinicznych.

UWAGA 2 : Organizmy o dużych potrzebach odżywczych i wymagające odpowiednich środków ostrożności w postępowaniu z nimi (np. *Brucella* oraz *Francisella*), nie są włączone do bazy danych API 20 NE. W celu potwierdzenia lub wykluczenia ich obecności muszą zostać zastosowane alternatywne metody.

Przygotowanie paska

- Przygotować komorę inkubacyjną (podstawkę i pokrywkę) i nanieść około 5 ml destylowanej lub demineralizowanej wody [lub jakiegokolwiek wody bez dodatków lub związków chemicznych, z których mogą wydzielać się gazy (np. Cl₂, CO₂ itd.)] na podstawkę w kształcie plastra miodu, w celu wytworzenia komory wilgotnej.
- Zanotować numer szczepu na wydłużonej części podstawki. (Nie notować numeru na pokrywce, ponieważ może ona ulec zamianie w trakcie badań).
- Wyjąć pasek z indywidualnego opakowania.
- Umieścić pasek w komorze inkubacyjnej.

Przygotowanie inokulum

- Otworzyć ampułkę API NaCl 0.85 % Medium (2 ml) w sposób opisany w paragrafie "Środki ostrożności" w instrukcji dla tego produktu, lub użyć jakiegokolwiek próbówki zawierającej 2 ml 0.85 % jałowej soli fizjologicznej bez dodatków.
- Używając pipety lub PSlpety, pobrać z płytki agarowej 1-4 kolonii o identycznej morfologii poprzez zassanie lub kolejne dotknięcia. Zaleca się używanie młodych hodowli (18-24 godzinnych).
- Przygotować zawiesinę o zmętnieniu odpowiadającym 0.5 w skali McFarland'a. Zawiesinę tę użyć natychmiast po sporządzeniu.

UWAGA: Bardzo ważne jest, aby gęstość inokulum wynosiła dokładnie 0.5 McFarland ; w przeciwnym wypadku testy na pasku API 20 NE mogą działać niepoprawnie. Szczególnie słabsze inokulum może prowadzić do fałszywie ujemnych wyników. Nie dotykać mikropróbówek podczas pracy z paskiem i nie pozostawiać paska wystawionego zbyt długo na działanie powietrza po zakończeniu nanoszenia inokulum.

Napełnianie paska

- Napełnić testy od NO₃ do PNPG poprzez rozdzielenie tą samą pipetą zawiesiny w soli fizjologicznej do probówek (ale bez wgłębień). Aby uniknąć tworzenia pęcherzyków przy podstawie probówki, należy pochylić pasek lekko do przodu i umieścić końcówkę pipety lub PSlpety przy ścianie wgłębienia.
- Otworzyć ampułkę API AUX Medium w sposób opisany w paragrafie "Środki ostrożności" i dodać do ampułki około 200 µl z pozostałej zawiesiny w soli fizjologicznej. Homogenizować dokładnie pipetą unikając tworzenia pęcherzyków.
- Napełnić zawiesiną probówki i wgłębienia testów od GLU do PAC. Uważać, aby pozostawić powierzchnię płaską lub z niewielkim meniskiem wypukłym, ale nigdy nie z wklęsłym. Testy niedopełnione lub przepelnione mogą dawać niepoprawne wyniki.
- Dodać olej mineralny do wgłębień 3 podkreślonych testów (GLU, ADH i URE), aż do wytworzenia menisku wypukłego.
- Zamknąć komorę inkubacyjną i inkubować w 29°C ± 2°C przez 24 godziny (± 2 godziny).

ODCZYT I INTERPRETACJA

Odczyt paska

- Po inkubacji odczytać pasek korzystając z Tabeli Odczytu.
- Zanotować wyniki wszystkich spontanicznych reakcji (GLU, ADH, URE, ESC, GEL i PNPG) na karcie wyników.
- Odczytu dwóch testów NO₃ i TRP należy dokonywać chroniąc testy asymilacyjne przed zanieczyszczeniami przenoszonymi z powietrzem. Aby to wykonać, przykryć testy asymilacyjne pokrywką komory inkubacyjnej, podczas odczytywania testów NO₃ i TRP.
- **Test NO₃:**
 - Dodać po 1 kropli odczynnika NIT 1 i NIT 2 do wgłębienia NO₃.
 - Po 5 minutach, **czerwony** kolor wskazuje na reakcję **pozytywną**, co należy zanotować na karcie wyników.
 - Reakcja negatywna może być wywołana wytwarzaniem azotu (uwidoczniona obecnością małych pęcherzyków): dodać 2-3 mg odczynnika Zn do wgłębienia NO₃.
 - Po 5 minutach, jeśli wgłębienie pozostanie **bezbardwe**, wynik reakcji jest **pozytywny**, co należy zanotować na karcie wyników. Jeśli we wgłębieniu następuje zmiana koloru na **różowo-czerwony**, wynik reakcji jest **negatywny**, ponieważ azotany, które były obecne w próbówce, zostały zredukowane przez cynk do azotynów.

Reakcją zastosowaną do identyfikacji bakterii jest redukcja azotanów. Daje ona wynik pozytywny, jeśli zajdzie któraś z powyższych reakcji (wytwarzanie NO₂ lub N₂).

Wytwarzanie N₂ może być jednakże reakcją używaną jako oddzielny test uzupełniający (zgodnie z Książką Kodów).

- **Test TRP:** Dodać 1 kroplę odczynnika JAMES. Reakcja zachodzi natychmiast: **różowy** kolor pojawiający się w całej mikropróbówce wskazuje na **pozytywny** wynik reakcji, który należy zanotować na karcie wyników.

• Testy asymilacji:

Obserwować występowanie wzrostu bakterii. Mikroprobówki ze **zmętnieniem** wykazują reakcję **pozytywną**.

Niekiedy może występować w mikroprobówce słaby wzrost. W takim przypadku, zanotowany wynik powinien mieć postać \mp lub \pm przez odniesienie do natężenia wzrostu w innych testach na pasku.

Jeśli dokona się takiego odczytu, zidentyfikowanie bakterii możliwe jest postępując zgodnie z paragrafem "Interpretacja".

Dalsza inkubacja jest konieczna w następujących przypadkach:

- niskiego rozróżnienia;
- profilu nie do zaakceptowania lub wątpliwego;
- jeśli występuje następująca uwaga przy otrzymanym profilu :

IDENTYFIKACJA NIE DO ZATWIERDZENIA
PRZED UPŁYWEM 48 GODZIN INKUBACJI

Używając pipety lub PSlpety, usunąć odczynniki NIT 1, NIT 2 i JAMES przez zassanie i natychmiast pokryć testy NO₃ i TRP olejem mineralnym, tak aby wytworzył się menisk wypukły. Poddać pasek dalszej inkubacji w 29°C ± 2°C przez kolejne 24 godziny i odczytać wyniki wszystkich testów powtórnie, za wyjątkiem 3 pierwszych (NO₃, TRP i GLU), które należy odczytywać tylko raz po 24 godzinach.

KONTROLA JAKOŚCI

Podłoża, paski i odczynniki są systematycznie poddawane kontroli jakości na różnym poziomie procesu produkcji.

Do oceny systemu API 20 NE po transporcie/magazynowaniu może być używana **Częściowa Kontrola Jakości**. Ta metoda może być wykonywana według załączonych instrukcji badania w celu spełnienia kryteriów Kontroli Jakości CLSI M50-A dla komercyjnych systemów identyfikacji mikrobiologicznej.

W zestawie nie ma substratów o znacząco obniżonej trwałości podczas transportu, do przeprowadzenia Częściowej Kontroli Jakości można więc użyć dwóch szczepów: **Aeromonas hydrophila ATCC® 35654**, który jest najczęściej dodatni oraz **Alcaligenes faecalis ATCC 35655**, który jest najczęściej ujemny w reakcjach w systemie API 20 NE.

Dla użytkowników, którzy zobowiązani są prowadzić **Pełną Kontrolę Jakości** pasków zaleca się następujące cztery szczepy dla sprawdzenia dodatniej i ujemnej reaktywności większości testów zestawu API 20 NE.

1. <i>Aeromonas hydrophila</i>	ATCC 35654	3. <i>Sphingobacterium multivorum</i>	ATCC 35656
2. <i>Alcaligenes faecalis</i>	ATCC 35655	4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

	NO ₃	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNPG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX
1.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-*	-	+
2.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
3.	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
4.	+	-	-	V	V	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+

* Może wystąpić słaba reakcja.

Profile dla testów od ADH do PAC otrzymano po 48 godzinach inkubacji z hodowli na agarze tryptozowo-sojowym.

Użytkownik jest zobowiązany do prowadzenia kontroli jakości zgodnie z lokalnymi przepisami.

Interpretacja

Identyfikację otrzymuje się z **profilu numerycznego**.

• Określenie profilu numerycznego:

Na karcie wyników testy podzielone są na grupy po 3, każdy odpowiednio o wartości 1, 2 lub 4. Przez dodanie do siebie wartości odpowiadających pozytywnym reakcjom w obrębie każdej grupy otrzymuje się 7 cyfrowy profil numeryczny. Reakcja oksydazy stanowi 21. test i ma wartość 4, jeśli jest pozytywna.

• Identyfikacja:

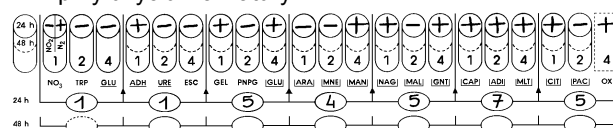
Użykuje się ją używając bazy danych (V7.0)

* z Książki Kodowej:

- Odszukać właściwy profil numeryczny na liście profili.

* z oprogramowania komputerowego **apiweb™**:

- Wprowadzić 7 cyfrowy profil numeryczny manualnie przy użyciu klawiatury.



1 154 575 *Pseudomonas aeruginosa*

OGRANICZENIA METODY

- System API 20 NE służy jedynie do identyfikacji tych niejelitowych pałeczek Gram-ujemnych, o niewysokich wymaganiach odżywczych, które znajdują się w bazie danych (patrz Tabela Identyfikacyjna na końcu instrukcji). Nie może być używany do identyfikacji innych mikroorganizmów lub wykluczania ich obecności.
- Niefermentujące pałeczki gram-ujemne, wyizolowane od pacjentów z mukowiscydozą, mogą dawać atypowe profile biochemiczne, co ma wpływ na identyfikację.
- Należy używać tylko czysto wyizolowanych bakterii.

ZAKRES SPODZIEWANYCH WYNIKÓW

W Tabeli Identyfikacyjnej na końcu instrukcji sprawdzić zakres spodziewanych wyników dla różnych testów biochemicznych.

OCENA TESTU

Przebadano 5728 szczepów, z kolekcji i różnych źródeł, należących do gatunków zawartych w bazie danych:

- 92.53 % szczepów prawidłowo zidentyfikowano (z lub bez testów uzupełniających).
- 3.13 % szczepów nie zidentyfikowano.
- 4.34 % zostało nieprawidłowo zidentyfikowanych.

POSTĘPOWANIE ZE ZUŻYTYMI TESTAMI

Niezużyte ampułki API AUX Medium można traktować jako materiał bezpieczny biologicznie i pozbywać zgodnie z tym założeniem.

Wszystkich zużytych i niezużytych odczynników (innych niż ampułki API AUX Medium), jak i zanieczyszczonych sprzętów jednorazowych, należy pozbywać się zgodnie z procedurami dla materiałów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych.

Obowiązkiem każdego laboratorium jest pozbywanie się zużytych testów i wytworzonych ścieków w zależności od typu i stopnia zabezpieczenia laboratorium oraz dezynfekować je i usuwać (zlecić dezynfekcję i usuwanie) zgodnie z zatwierdzonymi procedurami.

TABELA ODCZYTÓW

TEST	AKTYWNE SKŁADNIKI	STĘŻENIE (mg/probówka)	REAKCJE/ENZYMY	WYNIKI	
				NEGATYWNY	POZYTYWNY
NO ₃	azotan sodu	0.136	redukcja azotanów do azotynów	NIT 1 + NIT 2 / 5 min bezbarny różowo-czerwony	
			redukcja azotynów do azotu	Zn / 5 min różowy bezbarwny	
TRP	L-tryptofan	0.2	wytwarzanie indolu (tryptofan)	JAMES / natychmiast bezbarny bladzi zielony / żółty różowy	
<u>GLU</u>	D-glukoza	1.92	fermentacja (glukoza)	niebieski do zielonego	żółty
<u>ADH</u>	L-arginina	1.92	dihydrolaza argininy	żółty	pomarańczowy / różowy / czerwony
<u>URE</u>	mocznik	0.76	ureaza	żółty	pomarańczowy / różowy / czerwony
ESC	eskulina cytrynian żelaza	0.56 0.072	hydroliza (β-glukozydaza) (eskulina)	żółty	szary / brązowy / czarny
GEL	żelatyna (wołowa)	0.6	hydroliza (proteaza) (żelatyna)	brak dyfuzji pigmentu	dyfuzja czarnego pigmentu
PNPG	4-nitrofenilo-βD-galaktopiranozyd	0.22	β-galaktocydaza (para-nitrofenilo-βD-galaktopiranozydaza)	bezbarny	żółty
<u>GLU</u>	D-glukoza	1.56	asymilacja (glukoza)	przejrzysty	zmętnienie
<u>ARA</u>	L-arabinoza	1.4	asymilacja (arabinoza)	przejrzysty	zmętnienie
<u>MNE</u>	D-mannoza	1.4	asymilacja (mannoza)	przejrzysty	zmętnienie
<u>MAN</u>	D-mannitol	1.36	asymilacja (mannitol)	przejrzysty	zmętnienie
<u>NAG</u>	N-acetylo-glukozamina	1.28	asymilacja (N-acetylo-glukozamina)	przejrzysty	zmętnienie
<u>MAL</u>	D-maltoza	1.4	asymilacja (maltoza)	przejrzysty	zmętnienie
<u>GNT</u>	glukonian potasu	1.84	asymilacja (glukonian potasu)	przejrzysty	zmętnienie
<u>CAP</u>	kwas dekanowy	0.78	asymilacja (kwas dekanowy)	przejrzysty	zmętnienie
<u>ADI</u>	kwas adypinowy	1.12	asymilacja (kwas adypinowy)	przejrzysty	zmętnienie
<u>MLT</u>	kwas jabłkowy	1.56	asymilacja (jabłczan)	przejrzysty	zmętnienie
<u>CIT</u>	cytrynian trisodowy	2.28	asymilacja (cytrynian trisodowy)	przejrzysty	zmętnienie
<u>PAC</u>	kwas fenylloctowy	0.8	asymilacja (kwas fenylloctowy)	przejrzysty	zmętnienie
OX	(przeczytać instrukcję do testu oksydazy)	-	ooksydaza cytochromowa	(przeczytać instrukcję do testu oksydazy)	

- Wskazane stężenia mogą być regulowane w zależności od miana użytego surowego materiału.
- Niektóre mikroprobówki zawierają produkty pochodzenia zwierzęcego, zwłaszcza peptony.

METODYKA	str. I
TABELA IDENTYFIKACYJNA	str. II
PIŚMIENNICTWO	str. III
TABELA SYMBOLI	str. IV

bioMérieux i jego niebieskie logo, API i **apiweb** są znakami towarowymi używanymi, w trakcie rejestracji i/lub zastrzeżonymi, należącym do bioMérieux SA lub jednego z przedstawicieli.

ATCC jest znakiem towarowym należącym do American Type Culture Collection.

Wszystkie pozostałe nazwy i znaki towarowe są własnością ich posiadaczy.

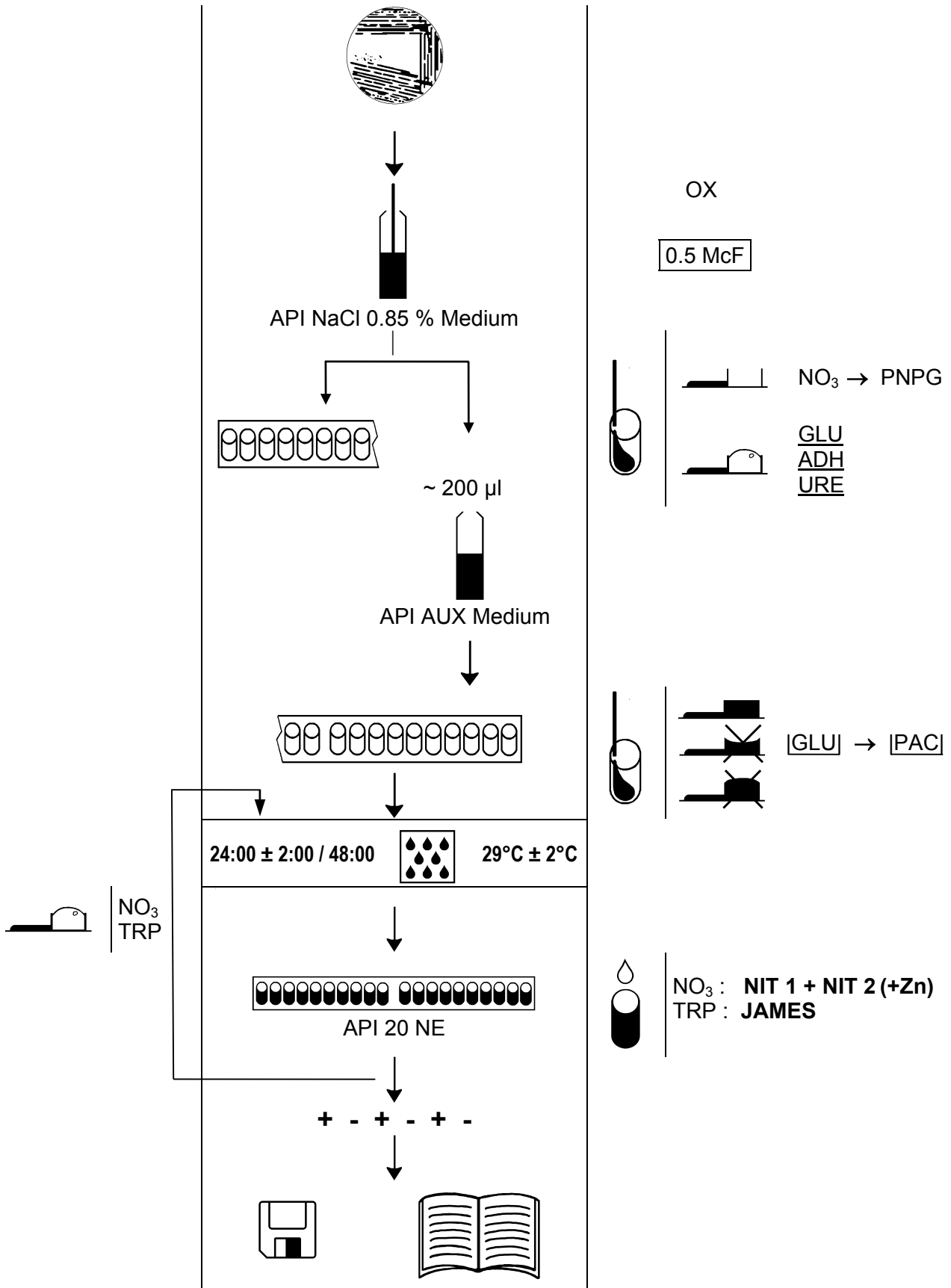


bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tél. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11
Wydrukowano we Francji











METHODOLOGIE / PROCEDURE / METHODIK / TECNICA / PROCEDIMENTO /
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ / METOD / METODE / METODYKA



**BIBLIOGRAPHIE / LITERATURE REFERENCES / LITERATUR / BIBLIOGRAFIA /
ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΩΝ / REFERENSLITTERATUR / LITTERATURHENVISNINGER /
PISMIENICTWO**

1. APPELBAUM P.C., LEATHERS D.J.
Evaluation of the Rapid NFT System for Identification of Gram-Negative, Nonfermenting Rods.
(1984) J. Clin. Microbiol. 20, 730-734.
2. BERNARDS A.T., VAN DER TOORN J., VAN BOVEN C.P.A., DIJKSHOORN L.
Evaluation of the Ability of a Commercial System to Identify *Acinetobacter* Genomic Species.
(1996) Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 15, 4, 303-308.
3. BILKEY M.K., BREMNER D.A., CAMERON G.L., GARNER J.G.
Comparison of Five Commercial Methods for the Identification of Non-fermentative and Oxidase Positive Fermentative Gram-Negative Bacilli.
(1988) N.Z.J. Med. Lab. Technol., 8-12.
4. CULLEN K.C., KLOOSTERMAN R.E., SHALIS P.J., PIERSON C.L.
Comparison of Three Commercial Systems for the Identification of Glucose Non-fermenting Gram-Negative Rods.
(1989) ASM Annual Meeting - Poster N° C26.
5. DANCE D.A.B, WUTHIEKANUN V., NAIGOWIT P., WHITE N.J.
Identification of *Pseudomonas pseudomallei* in Clinical Practice : Use of Simple Screening Tests and API 20 NE.
(1989) J. Clin. Pathol. 42, 645-648.
6. FRENEY J., GARONNAT D., BOUVARD V., FLEURETTE J.
Comparaison de Deux Systèmes d'Identification de Bacilles Gram Négatifs Non Fermentants et de Bacilles Fermentants Oxydase Positive.
(1984) Ann. Biol. Clin. 42, 337-341.
7. GEISS H.K., PIOTROWSKI H.D., HINGST V.
Evaluation of API 20 NE in Routine Diagnostics of Nonfermenting Gram-Negative Rod-Shaped Bacteria.
(1985) Zbl. Bakt. Mikrobiol. Hyg. A-Med. 259, 1, 35-42.
8. KISKA D.L., KERR A., JONES M.C., CARACCILOLO J.A., ESKRIDGE B., JORDAN M., MILLER S., HUGHES D., KING N., GILLIGAN P.H.
Accuracy of Four Commercial Systems for Identification of *Burkholderia cepacia* and Other Gram-Negative Nonfermenting Bacilli recovered from Patients with Cystic Fibrosis.
(1996) J. Clin. Microbiol. 34, 4, 886-891.
9. LAMPE A.S., VAN DER REIJDEN T.J.K.
Evaluation of Commercial Test Systems for the Identification of Nonfermenters.
(1984) Eur. J. Clin. Microbiol. 3, 301-305.
10. MARTIN R., SIAVOSHI F., McDOUGAL D.L.
Comparison of Rapid NFT System and Conventional Methods for Identification of Nonsaccharolytic Gram-Negative Bacteria.
(1986) J. Clin. Microbiol. 24, 1089-1092.
11. OVERMAN T.L., KESSLER J.F., SEABOLT J.P.
Comparison of API 20 E, API Rapid E and API Rapid NFT for Identification of Members of the Family *Vibrionaceae*.
(1985) J. Clin. Microbiol. 22, 778-781.
12. PALMIERI M.J., CARITO S.L., MEYER R.F.
Comparison of Rapid NFT and API 20 E with Conventional Methods for Identification of Gram-Negative Nonfermentative Bacilli from Pharmaceuticals and Cosmetics.
(1988) Applied and Environmental Microbiol. 54, 2838-2841.
13. PELADAN F., MONTEIL H.
Identification of *Pseudomonas*, *Flavobacterium* and *Alcaligenes* with the API 20 NE System.
(1988) Path. Biol., 36, 187-192.
14. SOGAARD P., GAHRN-HANSEN B., HUI-PING Z., FREDERIKSEN W.
An Investigation of Three Commercial Methods for Rapid Identification of Non-Enteric Gram-Negative Rods.
(1986) Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand. Sect. B, 94, 357-363.
15. TOWNER K.J., CHOPADE B.A.
Biotyping of *Acinetobacter calcoaceticus* using the API 20 NE System.
(1987) Journal of Hospital Infection. 10, 145-151.
16. VON GRAEVENITZ A., ZOLLINGER-ITEN J.
Evaluation of Pertinent Parameters of a New Identification System for Non-Enteric Gram-Negative Rods.
(1985) Eur. J. Clin. Microbiol. 4, 108-112.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute, M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems; Approved Guideline, Vol. 28 n° 23.

**TABLE DES SYMBOLES / INDEX OF SYMBOLS / SIMBOLE / CUADRO DE SIMBOLOS /
TABELLA DEI SIMBOLI / QUADRO DOS SÍMBOLOS / ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ / SYMBOLER /
SYMBOLFORTEGNELSE / TABELA SYMBOLI**

Symbole / Symbol Símbolo / Simbolo Σύμβολο	Signification / Meaning / Bedeutung Significado / Significato / Επεξήγηση Betydelse / Betydning / Znaczenie
 REF	Référence du catalogue Catalogue number (GB) / Catalog number (US) Bestellnummer / Número de catálogo / Numero di catalogo Referência de catálogo / Αριθμός καταλόγου Katalognummer / Katalognummer / Numer katalogowy
 IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro In Vitro Diagnostic Medical Device / In Vitro Diagnostikum Producto sanitario para diagnóstico in vitro Dispositivo medico-diagnostico in vitro Dispositivo médico para diagnóstico in vitro In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Medicintekniska produkter för in vitro diagnostik Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik Wyrób do diagnostyki In Vitro
	Fabricant / Manufacturer / Hersteller / Fabricante Fabbicante / Κατασκευαστής / Tillverkare / Producent
	Limites de température / Temperature limitation Temperaturbegrenzung / Limite de temperatura Limiti di temperatura / Limites de temperatura Περιορισμοί θερμοκρασίας / Temperaturbegränsning Temperaturbegrænsning Przestrzegać zakresu temperatury
	Utiliser jusque / Use by / Verwendbar bis Fecha de caducidad / Utilizzare entro / Prazo de validade Ημερομηνία λήξης / Använd före / Holdbar til / Użyć przed
 LOT	Code du lot / Batch code Chargenbezeichnung / Código de lote Codice del lotto / Código do lote Αριθμός Παρτίδας / Lot nummer / Lotnummer / Kod partii
	Consulter les instructions d'utilisation Consult Instructions for Use Gebrauchsanweisung beachten Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso Consulte as instruções de utilização Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Se handhavandebeskrivningen / Se brugsanvisning Sprawdź w instrukcji obsługi
	Contenu suffisant pour "n" tests Contains sufficient for <n> tests Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen Contenido suficiente para <n> ensayos Contenuto sufficiente per "n" saggi Conteúdo suficiente para "n" ensaios Περιεχόμενο επαρκές για «v» εξετάσεις Räcker till "n" antal tester Indeholder tilstrækkeligt til "n" test Wystarczy na wykonanie <n> testów