

Système d'identification des bactéries corynéformes

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

API Coryne est un système standardisé pour l'identification en 24 heures des bactéries corynéformes utilisant des tests miniaturisés, ainsi qu'une base de données spécifique. 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

API Coryne se compose d'une galerie constituée de 20 microtubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres.

Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense qui réhydrate les substrats enzymatiques. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les substrats sucrés. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré.

Après incubation, 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 12 tests)

- 12 galeries API Coryne
- 12 ampoules d'API GP Medium
- 12 ampoules d'API Suspension Medium, 3 ml
- 1 ampoule McFarland, point 6
- 12 fiches de résultats
- 12 boîtes d'incubation
- 1 notice

COMPOSITION

Galerie

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

Milieus

API GP Medium 2 ml	L-cystine Tryptone (origine bovine/porcine) Chlorure de sodium Sulfite de sodium Rouge de phénol Eau déminéralisée pH : 7,4 - 7,8	0,5 g 20 g 5 g 0,5 g 0,17 g qsp 1000 ml
API Suspension Medium 3 ml	Eau déminéralisée	
Etalon 6 de McFarland	BaSO ₄	2,88 10 ⁻⁴ mol/l

Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.

REACTIFS ET MATERIEL NECESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Réactifs

- Réactifs : NIT 1 + NIT 2 (Réf. 70 442)
ZYM A (Réf. 70 494)
ZYM B (Réf. 70 493)
PYZ (Réf. 70 492)
- Huile de paraffine (Réf. 70 100)
- Peroxyde d'hydrogène (3 %)
- DENSIMAT (Réf. 99 234)
- Catalogue Analytique API Coryne (Réf. 20 990) ou logiciel d'identification **apiweb**™ (Réf. 40 011) (consulter bioMérieux)
- Gélose Columbia au sang avec ANC (Réf. 43 071) ou sans ANC (Réf. 43 041) ou Trypcase Soja au sang (Réf. 43 001)

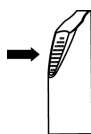
Matériel

- Pipettes ou PSipettes
- Portoir pour ampoules
- Protège-ampoule
- Ecouvillons
- 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 et cultures bactériennes doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée par un personnel compétent et averti. 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, ...
- Il est recommandé de réaliser un contrôle qualité avant d'utiliser chaque nouvelle ampoule de réactif ZYM B.

- 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.

Les ampoules d'API Suspension Medium se conservent à 2-30°C jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur l'emballage.

ECHANTILLONS (PRELEVEMENT ET PREPARATION)

API Coryne ne doit pas être utilisé directement à partir des prélèvements d'origine clinique ou autre.

Les microorganismes à identifier doivent dans un premier temps être isolés sur un milieu de culture adapté selon les techniques usuelles de bactériologie.

MODE OPERATOIRE

Sélection des colonies

Après isolement et vérification de l'appartenance de la souche à identifier au groupe des bacilles à Gram positif, non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs :

- Noter le type d'hémolyse.
- Prélever une colonie bien isolée et la mettre en suspension dans 0,3 ml d'eau stérile.
- Inonder une boîte de gélose (gélose Trypcase Soja + 5% sang de mouton ou Columbia + 5% sang de mouton avec ou sans ANC) avec cette suspension (ou écouvillonner stérilement toute la surface de la gélose).
- Incuber la boîte 24 - 48 heures à 37°C.

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 du fond 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 Suspension Medium comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation".
- A l'aide d'un écouvillon, prélever toute la culture préalablement préparée. Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (24-48 heures).
- Réaliser une suspension d'opacité supérieure à celle du point **6 de McFarland**. Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

Inoculation de la galerie

- Dans les onze premiers tests de la galerie (tests NIT à GEL) répartir la suspension précédente en évitant la formation de bulles (pour cela, incliner la boîte d'incubation vers l'avant et placer la pointe de la pipette ou de la PSIpette sur le côté de la cupule) :
 - pour les tests NIT à ESC : environ 100-150 µl dans chaque cupule.
 - pour le test URE : remplir uniquement le tube.
 - pour le test GEL : remplir tube et cupule.
- Dans les neuf derniers tests de la galerie (tests 0 à GLYG) :
 - ouvrir une ampoule d'API GP Medium comme indiqué au paragraphe "Précautions d'utilisation" et y transférer le reste de la suspension, soit environ 0,5 ml. Bien homogénéiser.
 - répartir cette nouvelle suspension dans les tubes uniquement.
- Remplir les cupules des tests soulignés URE, 0 à GLYG avec de l'huile de paraffine en formant un léger ménisque convexe.
- Refermer la boîte d'incubation.
- Incuber 24 heures (± 2 heures) à 36°C ± 2°C en **aérobiose**.

LECTURE ET INTERPRETATION

Lecture de la galerie

Après incubation :

- Ajouter les réactifs :
 - test NIT : 1 goutte de NIT 1 et NIT 2
 - test PYZ : 1 goutte de PYZ
 - tests PyrA, PAL, βGUR, βGAL, αGLU, βNAG : 1 goutte de ZYM A et ZYM B (*).
- (* **Il est recommandé de contrôler** chaque ampoule de réactif ZYM B avant la 1^{ère} utilisation.
Pour cela, il est recommandé d'utiliser **la souche ATCC® 27402** mentionnée au paragraphe Contrôle Qualité afin d'exclure tout réactif défectueux.
- Attendre 10 minutes, puis lire toutes les réactions en se référant au Tableau de Lecture. Si nécessaire, exposer la galerie à une lampe forte (1000 W) 10 secondes pour décolorer le réactif en excès dans les tubes PyrA à βNAG.
- Réaliser le test CATalase (utilisé comme 21^{ème} test) : ajouter 1 goutte de peroxyde d'hydrogène à 3 % dans le test ESC ou GEL. Attendre 1 minute. L'apparition de **bulles** correspond à une réaction **positive**.
- Noter toutes les réactions sur la fiche de résultats.

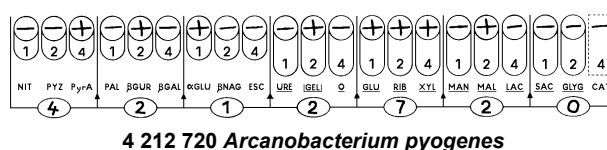
Interprétation

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 qui constituent le profil numérique ; la réaction de catalase qui constitue le 21^{ème} test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive.

- Identification :
Elle est réalisée à partir de la base de données (V3.0)
* 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.



CONTROLE DE QUALITE

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

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

Le contrôle peut être fait en utilisant la souche **Corynebacterium renale ATCC® 19412** pour évaluer les performances du test XYL. Des études réalisées par bioMérieux ont montré que sur la galerie API CORYNE, le test XYL est le test le plus sensible. Lors du contrôle, l'intégrité de la galerie peut être vérifiée en utilisant la souche *Corynebacterium renale* ATCC 19412.

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

1. *Corynebacterium renale* ATCC 19412
2. *Cellulosimicrobium cellulans* ATCC 27402
3. *Microbacterium testaceum* * ATCC 15829

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

	NIT	PYZ	PyrA	PAL	βGUR	βGAL	αGLU	βNAG	ESC	URE	LGEL	0	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT
1.	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
2.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	V	-	+	+	+	-	+	-	+	V	+
3.	-	+	-	V	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

* absent de la base de données.

- Profils obtenus après culture sur gélose Columbia + 5% de sang de mouton (Réf. 43 041).
- Inoculum ajusté entre 6 et 7 McF avec DENSIMAT.

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 Coryne est destiné à l'identification des bactéries corynéformes (genre *Corynebacterium* et genres apparentés) présentes dans la base de données (voir Tableau d'Identification en fin de notice) et à elles seules. Il ne peut être utilisé pour identifier d'autres microorganismes ou exclure leur présence. La base de données de ce produit concerne essentiellement les bactéries corynéformes les plus souvent isolées des prélèvements cliniques.
- Seules des cultures pures contenant un seul type de microorganisme doivent être utilisées.
- Parfois, les réactions biochimiques de la galerie API Coryne ne permettent pas de différencier 2 espèces et des tests complémentaires sont nécessaires, dans ce cas, une note apparaît. Le descriptif de ces tests et les références bibliographiques sont indiqués dans le Catalogue Analytique et dans la Brochure Technique "Informations biologiques pour logiciels d'identification".
- Si *C. diphtheriae* est identifié, des tests toxogéniques doivent être réalisés afin de déterminer si le micro-organisme est pathogène.
- L'opacité de la suspension bactérienne doit être égale ou supérieure à **6 de McFarland**. Avec une suspension d'opacité inférieure à **6 de McFarland**, les performances de la galerie API Coryne risquent d'être affectées. Des suspensions d'opacité supérieure à **6 de McFarland** améliorent les performances.

RESULTATS ATTENDUS

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

PERFORMANCES

1880 souches de diverses origines et souches de collection appartenant aux espèces de la base de données ont été testées :

- 97,71 % des souches ont été correctement identifiées (avec ou sans tests complémentaires).
- 1,28 % des souches n'ont pas été identifiées.
- 1,01 % des souches ont été mal identifiées.

ELIMINATION DES DECHETS

Les ampoules d'API Suspension Medium et McFarland non utilisées peuvent être éliminées comme déchets non dangereux.

Éliminer tous les réactifs utilisés ou non utilisés (autres que les ampoules d'API Suspension Medium et McFarland) 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
NIT	potassium nitrate	0,136	réduction des NITrates	NIT 1 + NIT 2 / 10 min incoloré rose très pâle	
PYZ	pyrazine carboxamide	0,56	PYraZinamidase	PYZ / 10 min incoloré brun très pâle orange très pâle	
PYRA	acide pyroglutamique- β-naphtylamide	0,0256	PYRrolidonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B (PyrA → βNAG) / 10 min incoloré orange pâle	
PAL	2-naphtyl-phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	incoloré beige - pourpre pâle orange pâle	
βGUR	acide naphtol-ASBI- glucuronique	0,0548	β-GlucURonidase	incoloré gris pâle beige pâle	
βGAL	2-naphtyl-βD- galactopyranoside	0,0312	β-GALactosidase	incoloré beige - pourpre pâle	
αGLU	2-naphtyl-αD-glucopyranoside	0,0308	α-GLUcosidase	incoloré beige - pourpre pâle vert pâle	
βNAG	1-naphtyl-N-acétyl- βD-glucosaminide	0,0348	N-Acétyl-β-Glucosaminidase	incoloré beige - pourpre pâle brun pâle gris pâle	
ESC	esculine citrate de fer	0,546 0,078	β-glucosidase (ESCuline)	incoloré gris	
URE	urée	0,76	UREase	jaune orange	
[GEL]	gélatine (origine bovine)	0,6	Hydrolyse (GELatine)	pas de diffusion de pigment noir	
0	Témoin négatif	-	Fermentation		
GLU	D-glucose	1,56	Fermentation (GLUcose)		
RIB	D-ribose	1,4	Fermentation (RIBose)		
XYL	D-xylose	1,4	Fermentation (XYLose)		
MAN	D-mannitol	1,36	Fermentation (MANnitol)		
MAL	D-maltose	1,4	Fermentation (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	Fermentation (LACtose)		
SAC	D-saccharose	1,32	Fermentation (SACcharose)		
GLYG	glycogène	1,28	Fermentation (GLYcoGène)		
CAT	(test ESC ou [GEL])	-	CATalase	H ₂ O ₂ (3 %) / 1 min absence de bulles présence de bulles	

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

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 coryneform bacteria

SUMMARY AND EXPLANATION

API Coryne is a standardized system for the identification of coryneform bacteria in 24 hours, which uses miniaturized tests and a specially adapted 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 Coryne strip consists of 20 microtubes containing dehydrated substrates for the demonstration of enzymatic activity or the fermentation of carbohydrates.

The enzymatic tests are inoculated with a dense suspension of organisms, which reconstitutes the enzymatic substrates. During incubation, metabolism produces color changes that are either spontaneous or revealed by the addition of reagents.

The fermentation tests are inoculated with an enriched medium (containing a pH indicator) which reconstitutes the sugar substrates. Fermentation of carbohydrates results in acidification which is detected by a spontaneous color change in the pH indicator.

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 12 tests) :

- 12 API Coryne strips
- 12 ampules of API GP Medium
- 12 ampules of API Suspension Medium, 3 ml
- 1 McFarland ampule, point 6
- 12 result sheets
- 12 incubation boxes
- 1 package insert

COMPOSITION

Strip

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

Media

API GP Medium 2 ml	L-cystine	0.5 g
	Tryptone (bovine/porcine origin)	20 g
	Sodium chloride	5 g
	Sodium sulfite	0.5 g
	Phenol red	0.17 g
	Demineralized water	to make 1000 ml
pH : 7.4 - 7.8		
API Suspension Medium 3 ml	Demineralized water	
McFarland Standard 6	BaSO ₄	2.88 · 10 ⁻⁴ mol/l

The quantities indicated may be adjusted depending on the titer of the raw materials used.

REAGENTS AND MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Reagents

- Reagents : NIT 1 + NIT 2 (Ref. 70 442)
 - ZYM A (Réf. 70 494)
 - ZYM B (Réf. 70 493)
 - PYZ (Réf. 70 492)
- Mineral oil (Ref. 70 100)
- Hydrogen peroxide (3 %)
- DENSIMAT (Ref. 99 234)
- API Coryne Analytical Profile Index (Ref. 20 990) or **apiweb**™ identification software (Réf. 40 011) (consult bioMérieux)
- Columbia blood agar with CNA (Ref. 43 071) or without CNA (Ref. 43 041) or Trypcase Soy + blood (Ref. 43 001)

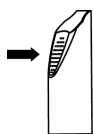
Material

- Pipettes or PSipettes
- Ampule rack
- Ampule protector
- Swabs
- 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 M29-A, *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.
- It is recommended to perform a quality control test when a new ampule of ZYM B reagent is opened.

- 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.

The ampules of API Suspension Medium may be stored at 2-30°C until the expiry date indicated on the packaging.

SPECIMENS (COLLECTION AND PREPARATION)

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

The microorganisms to be identified must first be isolated on a suitable culture medium according to standard microbiological techniques.

INSTRUCTIONS FOR USE

Selection of the colonies

Once the strain to be identified has been isolated and verified to be a member of the group of Gram-positive, non-sporeforming, facultatively aero-anaerobic rods :

- Note the type of hemolysis.
- Pick up a well-isolated colony and suspend it in 0.3 ml of sterile water.
- Flood an agar plate (Trypcase Soy agar + 5% sheep blood or Columbia agar + 5% sheep blood with or without CNA) with this suspension (or aseptically swab the entire surface of the agar).
- Incubate the plate for 24 - 48 hours at 37°C.

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 honey-combed wells of the tray to create a humid atmosphere.
- Record the strain reference on the elongated flap of the tray. (Do not record the reference 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 Suspension Medium as indicated in the paragraph "Warnings and Precautions".
- Using a swab, harvest all the culture from the previously prepared subculture plate. It is recommended to use young cultures (24-48 hours old).
- Make a dense suspension with a turbidity greater than **6 McFarland**. This suspension must be used immediately after preparation.

Inoculation of the strip

- In the first eleven tests of the strip (tests NIT to GEL) distribute the suspension obtained, avoiding the formation of bubbles (tilt the strip slightly forwards and place the tip of the pipette or PSIPette against the side of the cupule) :
 - For the tests NIT to ESC : distribute approximately 100-150 µl into each cupule.
 - For the URE test : fill the tube only.
 - For the GEL test : fill both tube and cupule.
- In the last nine tests of the strip (tests 0 to GLYG) :
 - Open an ampule of API GP Medium as indicated in the paragraph "Warnings and Precautions" and transfer the rest of the suspension into it (approx. 0.5 ml). Mix well.
 - Distribute this new suspension into the tubes only.
- Fill the cupule of the underlined tests (URE, and 0 to GLYG) with mineral oil to form a slight convex meniscus.
- Place the lid on the tray.
- Incubate for 24 hours (± 2 hours) at 36°C ± 2°C in **aerobic** conditions.

READING AND INTERPRETATION

Reading the strip

After the incubation period :

- Add the reagents :
 - NIT test : 1 drop each of NIT 1 and NIT 2
 - PYZ test : 1 drop of PYZ
 - PyrA, PAL, βGUR, βGAL, αGLU, βNAG tests : 1 drop each of ZYM A and ZYM B (*).
- (*) **It is recommended to control** each ampule of ZYM B before using for the first time.
To do this, it is recommended to use **the strain ATCC® 27402** indicated in the Quality Control paragraph in order to eliminate any defective reagents.
- Wait 10 minutes, then read all the reactions according to the Reading Table. If necessary, expose the strip to a strong light (1000 W) for 10 seconds to decolorize any excess reagents in tubes PyrA to βNAG.
- Perform the CATalase test (used as the 21st test) : add 1 drop of hydrogen peroxide (3 %) to the ESC or GEL test. Wait 1 minute. The appearance of **bubbles** corresponds to a **positive** reaction.
- Record all the reactions on the result sheet.

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 value of 1, 2 or 4 is indicated for each. By adding together the values corresponding to positive reactions within each group, a 7-digit profile number is obtained which constitutes the numerical profile. The catalase reaction constitutes the 21st test and has a value of 4 if it is positive.

READING TABLE

TESTS	ACTIVE INGREDIENTS	QTY (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTS	
				NEGATIVE	POSITIVE
NIT	potassium nitrate	0.136	reduction of NITrates	NIT 1 + NIT 2 / 10 min colorless very pale pink	
PYZ	pyrazinocarboxamide	0.56	PYraZinamidase	PYZ / 10 min colorless very pale brown very pale orange	
PYRA	pyroglutamic acid- β -naphthylamide	0.0256	PYRrolidonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B (PyrA \rightarrow β NAG) / 10 min colorless pale orange	
PAL	2-naphthyl-phosphate	0.0244	ALkaline Phosphatase	colorless beige - pale purple pale orange	purple
β GUR	Naphthol ASBI-glucuronic acid	0.0548	β -GlucURonidase	colorless pale grey pale beige	blue
β GAL	2-naphthyl- β D-galactopyranoside	0.0312	β -GALactosidase	colorless beige - pale purple	purple
α GLU	2-naphthyl- α D-glucopyranoside	0.0308	α -GLUcosidase	colorless beige - pale purple pale green	purple
β NAG	1-naphthyl-N-acetyl- β D-glucosaminide	0.0348	N-Acetyl- β -Glucosaminidase	colorless beige - pale purple pale brown pale grey	brown
ESC	esculin ferric citrate	0.546 0.078	β -glucosidase (ESCulin)	colorless grey	black
URE	urea	0.76	UREase	yellow orange	red pink
[GEL]	gelatin (bovine origin)	0.6	Hydrolysis (GELatin)	no diffusion of black pigment	diffusion of black pigment
0	Negative control	-	Fermentation	red orange	yellow yellow - orange
GLU	D-glucose	1.56	Fermentation (GLUcose)		
RIB	D-ribose	1.4	Fermentation (RIBose)		
XYL	D-xylose	1.4	Fermentation (XYLose)		
MAN	D-mannitol	1.36	Fermentation (MANnitol)		
MAL	D-maltose	1.4	Fermentation (MALtose)		
LAC	D-lactose (bovine origin)	1.4	Fermentation (LACtose)		
SAC	D-saccharose (sucrose)	1.32	Fermentation (SACcharose)		
GLYG	glycogen	1.28	Fermentation (GLYcoGen)		
CAT	(ESC or [GEL] test)	-	CATalase	H ₂ O ₂ (3 %) / 1 min no bubbles bubbles	

- 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 von coryneformen Bakterien

EINFÜHRUNG UND TESTERKLÄRUNG

API Coryne ist ein standardisiertes System, mit dem coryneforme Bakterien anhand von miniaturisierten Tests und einer speziellen Datenbank innerhalb von 24 Stunden identifiziert werden können. Die komplette Liste der mit dem System identifizierbaren Bakterien finden Sie in der Prozenttabelle am Ende der Arbeitsanleitung.

PRINZIP

API Coryne besteht aus einem Streifen mit 20 Mikroröhrchen, die dehydrierte Substrate zum Nachweis von Enzymaktivität oder Kohlenhydratfermentation enthalten. Die enzymatischen Tests werden mit einer dichten Bakteriensuspension beimpft. Dadurch werden die Enzymsubstrate rekonstituiert. Die Stoffwechselprodukte, die während der Inkubation entstehen, bewirken Farbumschläge, entweder direkt oder nach Zugabe von Reagenzien.

Die Fermentationstests werden mit einem angereicherten Medium, das einen pH-Indikator enthält, beimpft. Dabei werden die Zuckersubstrate gelöst. Die Fermentation der Kohlenhydrate führt zu einer Säurebildung, die durch Farbumschlag des Indikators angezeigt wird.

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

PACKUNGSGRÖSSE (für 12 Tests):

- 12 API Coryne Streifen
- 12 Ampullen API GP Medium
- 12 Ampullen API Suspension Medium, 3 ml
- 1 Ampulle McFarland Nr. 6
- 12 Ergebnisblätter
- 12 Inkubationswannen
- 1 Arbeitsanleitung

ZUSAMMENSETZUNG

Streifen

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

Medien

API GP Medium 2 ml	L-Cystin Trypton (Rind oder Schwein) Natriumchlorid Natriumsulfit Phenolrot Demineralisiertes Wasser ad 1000 ml pH-Wert: 7,4 - 7,8	0,5 g 20 g 5 g 0,5 g 0,17g
API Suspension Medium 3 ml	Demineralisiertes Wasser	
McFarland Standard 6	BaSO ₄	2,88 10 ⁻⁴ mol/l

Die angegebenen Mengen können je nach Konzentration der verwendeten Ausgangsmaterialien angeglichen werden.

ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Reagenzien

- Reagenzien: NIT 1 + NIT 2 (Best.Nr. 70 442)
ZYM A (Best.Nr. 70 494)
ZYM B (Best.Nr. 70 493)
PYZ (Best.Nr. 70 492)
- Paraffinöl (Best.Nr. 70 100)
- Wasserstoffperoxid (3 %)
- DENSIMAT (Best.Nr. 99 234)
- API Coryne Analytischer Profil Index (Best.Nr. 20 990) oder **apiweb™** Identifizierungssoftware (Best. Nr. 40 011) (bei bioMérieux anfragen)
- Columbia Blutagar mit CNA (Best.Nr. 43 071) oder ohne CNA (Best.Nr. 43 041) oder
Trypcase Soja mit Blut (Best.Nr. 43 001)

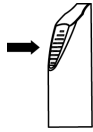
Materialien

- Pipetten oder PSIpetten
- Ampullenständer
- Schutzhülle für Ampullen
- Wattetupfer
- 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, sie als potenziell infektiös zu betrachten und unter Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen sachgemäß zu behandeln (nicht einnehmen, nicht einatmen).
- Alle Proben, Mikroorganismen und beimpften 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 M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* – aktuelle Revision". Weitere diesbezügliche Informationen finden Sie in "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH – Letzte Ausgabe" oder in den jeweils gültigen 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.
- Es ist empfehlenswert, beim Öffnen einer neuen Ampulle von ZYM B Reagenz eine Qualitätskontrolle durchzuführen.

- 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 oder andere Zusammenhänge, 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.

Die Ampullen des API Suspensionsmediums müssen bei 2-30°C gelagert werden und sind bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum haltbar.

PROBEN (ENTNAHME UND VORBEREITUNG)

API Coryne darf nicht zur direkten Testung von klinischen oder anderen Untersuchungsmaterialien verwendet werden.

Die zu identifizierenden Mikroorganismen müssen zuerst gemäß den üblichen mikrobiologischen Verfahren auf einem geeigneten Kulturmedium isoliert werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Auswahl der Kolonien

Überprüfen Sie nach der Isolierung, ob der Stamm zu den grampositiven, sporenlosen, fakultativ aerob-anaeroben Stäbchen gehört.

- Notieren Sie die Hämolyseart.
- Eine Einzelkolonie abimpfen und in 0,3 ml Aqua dest suspendieren.
- Eine Agarplatte (Trypcase Soja Agar + 5% Schafblut oder Columbia Agar + 5% Schafblut mit oder ohne CNA) mit dieser Suspension überfluten (oder mit einem Wattetupfer die ganze Oberfläche des Agars steril beimpfen).
- Die Platte 24 - 48 Stunden bei 37°C inkubieren.

Vorbereitung des Streifens

- Eine Inkubationswanne mit Deckel bereitstellen und 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 geben.
- Die Referenznummer des Stammes auf dem dafür vorgesehenen seitlichen Teil der Inkubationswanne notieren. (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

- Eine Ampulle API Suspension Medium öffnen, wie im Abschnitt "Vorsichtsmaßnahmen" beschrieben.
- Mit einem Wattetupfer die zuvor hergestellte Kultur ganz aufnehmen. Vorzugsweise junge Kulturen verwenden (24-48 Stunden alt).
- Eine dichte Suspension vorbereiten, deren Trübung über dem **McFarland 6** liegt. Diese Suspension muss sofort verwendet werden.

Beimpfung des Streifens

- Die 11 ersten Tests des Streifens (NIT bis GEL) wie folgt mit der Suspension beimpfen und dabei Blasenbildung vermeiden (dazu die Inkubationswanne leicht schräg halten und die Pipette oder PSipette am Rand des Bechers auflegen):
 - NIT bis ESC: ca. 100-150 µl in jeden Becher pipettieren.
 - URE: nur das Röhrchen füllen.
 - GEL: Röhrchen und Becher füllen.
- Beimpfung der 9 letzten Tests (0 bis GLYG):
 - Eine Ampulle API GP Medium öffnen, wie im Abschnitt "Vorsichtsmaßnahmen" beschrieben, und den Rest der Suspension (ca. 0,5 ml) in diese Ampulle übernehmen. Gut homogenisieren.
 - Mit dieser neuen Suspension nur die Röhrchen füllen.
- Die unterstrichenen Tests (URE, 0 bis GLYG) mit Paraffinöl überschichten, so dass sich ein leicht konvexer Meniskus bildet.
- Die Inkubationswanne mit dem Deckel schließen.
- 24 Stunden (± 2 Stunden) bei 36°C ± 2°C **aerob** inkubieren.

ABLESUNG UND INTERPRETATION

Ablesung des Streifens

Nach Inkubation:

- Reagenzien zugeben:
 - NIT: je 1 Tropfen NIT 1 und NIT 2
 - PYZ: 1 Tropfen PYZ
 - PyrA, PAL, βGUR, βGAL, αGLU, βNAG: je 1 Tropfen ZYM A und ZYM B (*).
- (* **Es ist empfehlenswert**, jede Ampulle des ZYM B Reagenzes vor dem ersten Gebrauch **zu kontrollieren**.
Hierfür ist es empfehlenswert, den im Abschnitt Qualitätskontrolle genannten **ATCC® Stamm 27402** zu verwenden, um jegliches unbrauchbares Reagenz auszuschließen.
- 10 Minuten warten, anschließend alle Reaktionen mit Hilfe der Ablesetabelle ablesen. Falls erforderlich, den Streifen 10 Sek. unter eine starke Lampe (1000 Watt) legen, um das überschüssige Reagenz in den Röhrchen PyrA bis βNAG zu entfärben.
- Den CATalase-Test durchführen (als Test Nr. 21): 1 Tropfen Wasserstoffperoxid (3 %) in den ESC- oder GEL-Test geben. 1 Minute warten. **Blasenbildung** zeigt eine **positive** Reaktion an.
- Alle Reaktionen auf dem Ergebnisblatt notieren.

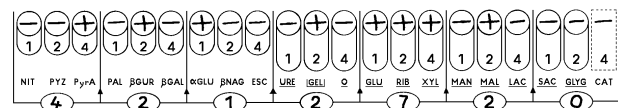
Interpretation

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

- Erstellung des numerischen Profils:
Die Tests auf dem Ergebnisblatt sind in 3-er Gruppen eingeteilt. Jeder Test erhält den Wert 1, 2 oder 4. Die den positiven Reaktionen entsprechenden Zahlenwerte jeder Gruppe werden addiert, so dass man 7 Zahlen erhält, die das numerische Profil ergeben. Die Katalasereaktion als 21. Test bekommt bei positivem Ergebnis den Wert 4.

- Identifizierung:
Die Identifizierung erfolgt anhand der Datenbasis (V3.0).
* mit dem Analytischen Profil Index:
- Das numerische Profil in der Profilliste nachschlagen.

* mit der **apiweb™** Identifizierungssoftware:
- Geben Sie das 7-stellige numerische Profil manuell über die Tastatur ein.



4 2 1 2 7 2 0 *Arcanobacterium pyogenes*

QUALITÄTSKONTROLLE

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

Es kann eine rationalisierte Qualitätskontrolle durchgeführt werden, um sicherzustellen, dass die Leistungsdaten des API Coryne 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.

Die Testung kann mit dem ***Corynebacterium renale* ATCC® 19412** Stamm durchgeführt werden, um die Leistungsdaten des XYL Tests zu evaluieren. Die von bioMérieux durchgeführten Tests haben gezeigt, dass der XYL Test der empfindlichste Test auf dem API Coryne Streifen ist. Durch die Testung von *Corynebacterium renale* ATCC 19412 kann eine Qualitätsminderung des Streifens nachgewiesen werden.

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

- | | | | |
|--|------------|--------------------------------------|------------|
| 1. <i>Corynebacterium renale</i> | ATCC 19412 | 3. <i>Microbacterium testaceum</i> * | ATCC 15829 |
| 2. <i>Cellulosimicrobium cellulans</i> | ATCC 27402 | | |

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

	NIT	PYZ	PyrA	PAL	βGUR	βGAL	αGLU	βNAG	ESC	URE	I GEL	0	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT
1.	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
2.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	V	-	+	+	+	-	+	-	+	V	+
3.	-	+	-	V	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

* Nicht in der Datenbank enthalten.

- Profile nach Anzucht auf Columbia Agar + 5% Schafblut (Best.Nr. 43 041).
- Inokulum wurde mit DENSIMAT auf McF 6 bis 7 eingestellt.

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

LIMITIERUNGEN

- Das API Coryne System ist nur zur Identifizierung der in der Datenbasis enthaltenen coryneformen Bakterien (*Corynebacterium* und verwandte Arten) bestimmt (siehe Prozenttabelle am Ende dieser Arbeitsanleitung). Andere Mikroorganismen können weder identifiziert noch ausgeschlossen werden. Die Datenbasis dieses Produkts beschränkt sich auf die coryneformen Bakterien, die häufig in klinischen Proben gefunden werden.
- Es dürfen nur Reinkulturen verwendet werden.
- Gelegentlich kann es vorkommen, dass sich zwei Spezies nicht durch die biochemischen Reaktionen des API Coryne Streifens unterscheiden lassen und dass ergänzende Tests durchgeführt werden müssen. In diesem Fall wird ein entsprechender Hinweis angezeigt. Testbeschreibungen und Literaturhinweise finden Sie im Analytischen Profil Index und im technischen Datenblatt "Biologische Informationen zur Identifizierungssoftware".
- Wird ein Keim als *C. diphtheriae* identifiziert, so müssen toxologische Untersuchungen durchgeführt werden, um dessen pathogene Eigenschaften festzustellen.
- Die Trübung der Bakterien suspension sollte größer oder gleich **6 McFarland** sein. Wird eine Suspension mit einer Trübung von weniger als **6 McFarland** eingesetzt, so wird die Performance des API Coryne Streifens beeinträchtigt. Suspensionen mit mehr als **6 McFarland** verbessern die Testperformance.

ERWARTETE ERGEBNISSE

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

PERFORMANCE

1880 Stämme unterschiedlicher Herkunft und Stämme aus Stammsammlungen, die zu den Spezies der Datenbasis gehören, wurden getestet:

- 97,71 % der Stämme wurden korrekt identifiziert (mit oder ohne Zusatztests).
- 1,28 % der Stämme wurden nicht identifiziert.
- 1,01 % der Stämme wurden falsch identifiziert.

BESEITIGUNG DER ABFÄLLE

Nicht gebrauchte Ampullen API Suspension Medium und McFarland können als normale Abfälle entsorgt werden.

Entsorgen Sie alle gebrauchten oder nicht gebrauchten Reagenzien (bis auf die Ampullen API Suspension Medium und McFarland) sowie kontaminierte Einwegmaterialien gemäß den für infektiöse oder potenziell infektiöse Produkte geltenden Verfahren.

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

ABLESETABELLE

TESTS	AKTIVE KOMPONENTEN	MENGE (mg/Vert.)	REAKTIONEN/ENZYME	ERGEBNISSE	
				NEGATIV	POSITIV
NIT	Kaliumnitrat	0,136	Reduktion des NITrats	NIT 1 + NIT 2 / 10 min farblos sehr helles rosa	
PYZ	Pyrazincarboxamid	0,56	PYraZinamidase	PYZ / 10 min farblos sehr helles braun sehr helles orange	
PYRA	Pyroglutaminsäure- β-naphtylamid	0,0256	PYRrolidonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B (PyrA → βNAG) / 10 min farblos helles orange	
PAL	2-Naphtylphosphat	0,0244	Phosphatase, ALkalisch	farblos beige - hellpurpur helles orange	purpur
βGUR	Naphthol ASBI-Glucuronsäure	0,0548	β-GlucURonidase	farblos hellgrau hellbeige	blau
βGAL	2-Naphtyl-βD-galactopyranosid	0,0312	β-GALactosidase	farblos beige - hellpurpur	purpur
αGLU	2-Naphtyl-αD-glucopyranosid	0,0308	α-GLUcosidase	farblos beige - hellpurpur hellgrün	purpur
βNAG	1-Naphtyl-N-acetyl- βD-glucosaminid	0,0348	N-Acetyl-β-Glucosaminidase	farblos beige - hellpurpur hellbraun hellgrau	braun
ESC	Esculin Eisencitrat	0,546 0,078	β-Glucosidase (ESCulin)	farblos grau	schwarz
URE	Harnstoff	0,76	UREase	gelb orange	rot rosa
[GEL]	Gelatine (Rind)	0,6	Hydrolyse (GELatine)	keine Diffusion des Pigments	Diffusion des schwarzen Pigments
Q	Kontrolle	-	Fermentation		
GLU	D-Glukose	1,56	Fermentation (GLUkose)		
RIB	D-Ribose	1,4	Fermentation (RIBose)		
XYL	D-Xylose	1,4	Fermentation (XYLose)		
MAN	D-Mannitol	1,36	Fermentation (MANnitrol)	rot orange	gelb gelb - orange
MAL	D-Maltose	1,4	Fermentation (MALtose)		
LAC	D-Lactose (Rind)	1,4	Fermentation (LACTose)		
SAC	D-Saccharose	1,32	Fermentation (SACcharose)		
GLYG	Glykogen	1,28	Fermentation (GLYkoGen)		
CAT	(ESC Test oder [GEL])	-	CATalase	H ₂ O ₂ (3 %) / 1 min keine Blasenbildung Blasenbildung	

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

METHODIK	S. I
IDENTIFIZIERUNGSTABELLE	S. II
LITERATUR	S. III
SYMBOLLE	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
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
Gedruckt in Frankreich



Sistema de identificación de bacterias corineformes

INTRODUCCIÓN Y OBJETO DEL ENSAYO

La galería API Coryne es un sistema estandarizado para la identificación en 24 horas de bacterias corineformes utilizando ensayos miniaturizados, así como una base de datos. La lista completa de las bacterias detectables por el sistema está indicada en la Tabla de Identificación al final de esta ficha técnica.

PRINCIPIO

El sistema API Coryne está compuesto por una galería de 20 microtubos que contienen sustratos deshidratados para la detección de actividades enzimáticas o de fermentación de azúcares.

Los ensayos enzimáticos se inoculan con una suspensión densa que rehidrata los sustratos enzimáticos. Las reacciones que se producen durante la incubación se traducen por cambios de color, bien espontáneos o bien provocados mediante la adición de reactivos.

Las pruebas de fermentación se inoculan con un medio enriquecido (que contiene un indicador de pH) que rehidrata los sustratos azucarados. La fermentación de los carbohidratos produce una acidificación que se traduce en un cambio de color espontáneo del indicador de color.

Después de la incubación, la lectura de estas reacciones se lleva a cabo con la ayuda de la Tabla de Identificación, y el reconocimiento se realiza mediante el Catálogo Analítico o con la ayuda de un programa informático de identificación.

PRESENTACIÓN (envase de 12 ensayos)

- 12 galerías API Coryne
- 12 ampollas de API GP Medium
- 12 ampollas de API Suspension Medium, 3 ml
- 1 ampolla McFarland, punto 6
- 12 hojas de resultados
- 12 cámaras de incubación
- 1 ficha técnica

COMPOSICIÓN

Galería

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

Medios

API GP Medium 2 ml	L-cistina Tryptona (origen bovino/porcino) Cloruro sódico Sulfito sódico Rojo fenol Agua desmineralizada pH : 7,4 - 7,8	0,5 g 20 g 5 g 0,5 g 0,17 g csp 1000 ml
API Suspension Medium 3 ml	Agua desmineralizada	
Patrón 6 de McFarland	BaSO ₄	2,88 · 10 ⁻⁴ mol/l

Las cantidades indicadas pueden ajustarse en función de los títulos de las materias primas.

REACTIVOS Y MATERIAL NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Reactivos

- Reactivos : NIT 1 + NIT 2 (ref. 70 442)
ZYM A (Ref. 70 494)
ZYM B (ref. 70 493)
PYZ (ref. 70 492)
- Aceite de parafina (ref. 70 100)
- Peróxido de hidrógeno (3 %)
- DENSIMAT (ref. 99 234)
- Catálogo Analítico API Coryne (ref. 20 990) o programa informático de identificación **apiweb™** (Ref. 40 011) (consultar con bioMérieux)
- Agar Columbia con sangre con ANC (ref. 43 071) o sin ANC (ref. 43 041) o Trypcase Soja con sangre (ref. 43 001)

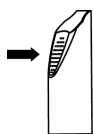
Material

- Pipetas o PSipettes
- Gradillas para ampollas
- Protege-ampolla
- Escobillones
- Equipo general de laboratorio de bacteriología

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. Las técnicas asépticas y las precauciones habituales de manipulación para el grupo bacteriano estudiado deben ser respetadas durante todo el proceso de manipulación; 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, ...
- Se recomienda realizar un control de calidad antes de utilizar cada ampolla nueva de reactivo ZYM B.

- Abrir las ampollas con delicadeza 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 ensayo 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 cepa 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.

Las ampollas de API Suspension Medium se conservan a 2-30°C hasta la fecha límite de utilización indicada en el envase.

MUESTRAS (TOMA Y PREPARACIÓN)

La galería API Coryne 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 adaptado según las técnicas usuales en bacteriología.

MODO OPERATORIO

Selección de las colonias

Después del aislamiento y verificación de la pertenencia de la cepa a identificar al grupo de los bacilos Gram positivos, no esporulados, aero-anaerobios facultativos:

- Anotar el tipo de hemólisis.
- Tomar una colonia bien aislada y ponerla en suspensión en 0,3 ml de agua estéril.
- Inundar la placa de agar (Agar Trypcase Soja + 5% sangre de cordero o Columbia + 5% sangre de cordero con o sin ANC) con esta suspensión (o pasar el escobillón estérilmente por toda la superficie del agar).
- Incubar la placa 24 - 48 horas a 37°C.

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 de liberar gases (Ej. Cl₂, CO₂...)] en los alveólos para crear una atmósfera húmeda.
- Anotar la referencia de las cepas en la lengüeta lateral de la cámara. (No anotarla 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 Suspension Medium como se indica en el párrafo "Precauciones de utilización".
- Con la ayuda de un escobillón, recoger todo el cultivo previamente preparado. Utilizar preferentemente cultivos jóvenes (24-48 horas).

- Realizar una suspensión de turbidez superior al patrón **6 de McFarland**. Esta suspensión debe ser utilizada de inmediato después de su preparación.

Inoculación de la galería

- En las once primeras pruebas de la galería (pruebas desde NIT a GEL) repartir la suspensión precedente evitando la formación de burbujas (para ello, inclinar la cámara de incubación hacia delante y colocar la punta de la pipeta o de la PSipette sobre el lateral de la cúpula):
 - para las pruebas desde NIT a ESC : unos 100-150 µl en cada cúpula.
 - para la prueba URE : llenar únicamente el tubo.
 - para la prueba GEL : llenar el tubo y la cúpula.
- En las nueve últimas pruebas de la galería (pruebas desde Q a GLYG) :
 - abrir una ampolla de API GP Medium como se indica en el párrafo "Precauciones de utilización" y transferir el resto de la suspensión, unos 0,5 ml. Homogeneizar bien.
 - repartir esta nueva suspensión en los tubos únicamente.
 - Llenar las cúpulas de las pruebas marcadas URE, Q a GLYG con aceite de parafina formando un menisco ligeramente convexo.
 - Volver a cerrar la cámara de incubación.
 - Incubar 24 horas (± 2 horas) a 36°C ± 2°C en **aerobiosis**.

LECTURA E INTERPRETACIÓN

Lectura de la galería

Después de la incubación :

- Agregar los reactivos :
 - test NIT : 1 gota de NIT 1 y NIT 2
 - test PYZ : 1 gota de PYZ
 - tests PyrA, PAL, βGUR, βGAL, αGLU, βNAG : 1 gota de ZYM A y ZYM B (*).
- (*) **Se recomienda controlar** cada ampolla de reactivo ZYM B antes de la 1^{era} utilización. Para ello, se recomienda utilizar **la cepa ATCC® 27402** mencionada en el párrafo Control de Calidad con el fin de excluir los reactivos defectuosos.
- Esperar 10 minutos, y después leer todas las reacciones consultando la Tabla de Identificación. Si fuera necesario, exponer la galería bajo una lámpara potente (1000 W) durante 10 segundos para decolorar el exceso de reactivo en los tubos PyrA a βNAG.
- Realizar la prueba de CATALasa (utilizado como test n° 21) : agregar 1 gota de peróxido de hidrógeno al 3 % en la prueba ESC o GEL. Esperar 1 minuto. La aparición de **burbujas** corresponde a una reacción **positiva**.
- Anotar todas las reacciones en la hoja de resultados.

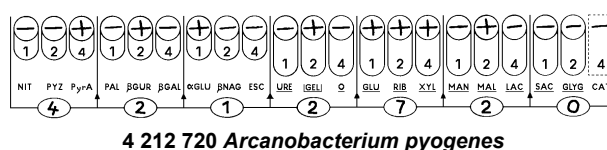
Interpretación

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

- Determinación del perfil numérico: En la hoja de resultados, las pruebas están separadas 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 que constituyen el perfil numérico a la reacción de la catalasa, que constituye el ensayo n° 21, le asignaremos el valor 4, cuando resulte positiva.

- Identificación:
Se realiza a partir de la base de datos (V3.0).
* 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.



CONTROL DE CALIDAD

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

El Control de Calidad Mínimo puede utilizarse para verificar que las condiciones de almacenaje y transporte no han afectado a las prestaciones de la galería API Coryne. Este control puede realizarse siguiendo las instrucciones y criterios esperados de acuerdo con los criterios de la referencia CLSI M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

El control puede hacerse utilizando la cepa ***Corynebacterium renale* ATCC® 19412** para evaluar las prestaciones de la prueba XYL. Los estudios realizados por bioMérieux han demostrado que la galería API CORYNE, la prueba XYL es la prueba más sensible. Durante el control, la integridad de la galería puede verificarse utilizando la cepa *Corynebacterium renale* ATCC 19412.

En el caso donde el Control de Calidad Completo se exija para esta galería, las tres cepas siguientes deberán ser analizadas para verificar las reacciones positivas y negativas de la mayoría de las pruebas de la galería API Coryne.

1. *Corynebacterium renale* ATCC 19412
2. *Cellulosimicrobium cellulans* ATCC 27402
3. *Microbacterium testaceum* * ATCC 15829

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

	NIT	PYZ	PyrA	PAL	βGUR	βGAL	αGLU	βNAG	ESC	URE	I GEL	O	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT
1.	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
2.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	V	-	+	+	+	-	+	-	+	V	+
3.	-	+	-	V	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

* ausente en la base de datos.

- Perfiles obtenidos después del cultivo sobre Agar Columbia + 5% de sangre de cordero (ref. 43 041).
- Inóculo ajustado entre 6 y 7 McF con DENSIMAT.

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

LIMITACIONES DEL ENSAYO

- El sistema API Coryne está destinado a la identificación de las bacterias corineformes (género *Corynebacterium* y géneros próximos) presentes en la base de datos (ver Tabla de Identificación al final de la presente ficha técnica), y sólo a ellas. No puede utilizarse para identificar otros microorganismos ni para excluir su presencia. La base de datos de este producto concierne esencialmente las bacterias corineformes aisladas más frecuentemente en muestras clínicas.
- Sólo se deben utilizar cultivos puros que contengan un sólo tipo de microorganismo.
- A veces, las reacciones bioquímicas de la galería API Coryne no permiten diferenciar entre 2 especies y resultan necesarias pruebas complementarias, y en este caso, aparece una nota. La descripción de estas pruebas y las referencias bibliográficas se indican en el Catálogo Analítico y en el Catálogo Técnico "Información biológica para programas informáticos de identificación".
- Caso de identificar *C. diphtheriae*, deben realizarse ensayos toxogénicos con el fin de determinar si el microorganismo es patógeno.
- La turbidez de la suspensión bacteriana debe ser igual o superior al patrón **6 de McFarland**. Con una suspensión de turbidez inferior a **6 de McFarland**, las prestaciones de la galería API Coryne corren el riesgo de resultar afectadas. Las suspensiones de turbidez superior a **6 de McFarland** mejoran las prestaciones.

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

Se han estudiado 1.880 cepas de diversos orígenes, así como cepas de colección pertenecientes a especies de la base de datos:

- 97,71% de las cepas han sido identificadas correctamente (con o sin pruebas complementarias).
- 1,28 % de las cepas no han sido identificadas.
- 1,01 % de las cepas se han identificado incorrectamente.

ELIMINACIÓN DE LOS DESECHOS

Las ampollas de API Suspension Medium y McFarland no utilizados pueden ser eliminados como residuos no peligrosos.

Eliminar todos los reactivos utilizados o no utilizados (distintos de las ampollas de API Suspension Medium y McFarland) así como los materiales de un solo uso contaminados siguiendo los procedimientos relacionados con los productos infecciosos o potencialmente infecciosos.

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

TABLA DE IDENTIFICACIÓN

ENSAYOS	COMPONENTES ACTIVOS	CANT (mg/cúp.)	REACCIONES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
NIT	nitrate potásico	0,136	reducción de NITratos	NIT 1 + NIT 2 / 10 min. inoloro rosa muy pálido	
PYZ	pirazina carboxamida	0,56	PIraZinamidasa	PYZ / 10 min. inoloro marrón muy pálido naranja muy pálido	
PYRA	ácido piroglutámico- β-naftilamida	0,0256	PIRolidonil Arilamidasa	ZYM A + ZYM B (PyrA → βNAG) / 10 min. inoloro naranja pálido	
PAL	2-naftil-fosfato	0,0244	Fosfatasa ALcalina	inoloro beige - púrpura pálido naranja pálido	
βGUR	ácido naftol-ASBI-glucurónico	0,0548	β-GlucURonidasa	inoloro gris pálido beige pálido	
βGAL	2-naftil-βD-galactopiranosida	0,0312	β-GALactosidasa	inoloro beige - púrpura pálido	
αGLU	2-naftil-αD-glucopiranosida	0,0308	α-GLUcosidasa	inoloro beige - púrpura pálido verde pálido	
βNAG	1-naftil-N-acetil- βD-glucosaminida	0,0348	N-Acetil-β-Glucosaminidasa	inoloro beige - púrpura pálido marrón pálido gris pálido	
ESC	esculina citrato férrico	0,546 0,078	β-glucosidasa (ESculina)	inoloro gris	
URE	urea	0,76	UREasa	amarillo naranja	
[GEL]	gelatina (origen bovino)	0,6	Hidrólisis (GELatina)	sin difusión del pigmento negro	
0	Testigo negativo	-	Fermentación	rojo naranja	
GLU	D-glucosa	1,56	Fermentación (GLUcosa)		
RIB	D-ribosa	1,4	Fermentación (RIBosa)		
XYL	D-xilosa	1,4	Fermentación (XILosa)		
MAN	D-manitol	1,36	Fermentación (MANitol)		
MAL	D-maltosa	1,4	Fermentación (MALtosa)		
LAC	D-lactosa (origen bovino)	1,4	Fermentación (LACTosa)		
SAC	D-sacarosa	1,32	Fermentación (SACarosa)		
GLYG	glicógeno	1,28	Fermentación (GLICóGeno)	amarillo amarillo - anaranjado	
CAT	(ensayo ESC o [GEL])	-	CATalasa	H2O2 (3 %) / 1 min. ausencia de burbujas	

- Las cantidades indicadas pueden ser ajustadas en función de los títulos de las materias primas.
- Ciertas cúpulas contienen componentes de origen animal, notablemente peptonas.

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 fabricantes respectivos.



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.biomérieux.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 dei batteri corineiformi

INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

API Coryne è un sistema standardizzato per l'identificazione in 24 ore di batteri corineiformi che utilizza test miniaturizzati insieme ad una base dei dati specifica. L'elenco completo dei batteri che si possono identificare con questo sistema è riportato nella Tabella di Identificazione alla fine della presente scheda tecnica.

PRINCIPIO

La galleria API Coryne è composta da 20 microprovette contenenti substrati disidratati per la rilevazione di attività enzimatiche o della fermentazione di zuccheri.

I test enzimatici sono inoculati con una sospensione batterica densa che reidrata i substrati enzimatici. Le reazioni prodotte durante il periodo di incubazione si traducono in viraggi di colore spontanei o rivelati dall'aggiunta di reattivi.

I test di fermentazione vengono inoculati con un terreno arricchito (contenente un indicatore di pH) che reidrata i substrati zuccherini. La fermentazione dei carboidrati produce un'acidificazione che si traduce in un viraggio spontaneo dell'indicatore colorato.

Dopo l'incubazione, la lettura delle reazioni viene eseguita con la Tabella di Lettura e l'identificazione si ottiene con l'Indice Analitico o con il software di identificazione.

CONTENUTO DELLA CONFEZIONE (12 test)

- 12 gallerie API Coryne
- 12 fiale di API GP Medium
- 12 fiale di API Suspension Medium, 3 ml
- 1 fiala McFarland, punto 6
- 12 schede per la registrazione dei risultati
- 12 vaschette di incubazione
- 1 scheda tecnica

COMPOSIZIONE

Galleria

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

Terreni

API GP Medium 2 ml	L-cistina Tryptone (origine bovina/suina) Cloruro di sodio Solfito di sodio Rosso fenolo Acqua demineralizzata q.b. per 1000 ml pH : 7.4 - 7.8	0.5 g 20 g 5 g 0.5 g 0.17 g
API Suspension Medium 3 ml	Acqua demineralizzata	
McFarland Standard 6	BaSO ₄	2.88 · 10 ⁻⁴ mol/l

Le quantità indicate possono essere modificate in funzione dei titoli delle materie prime utilizzate.

REATTIVI E MATERIALE NECESSARI MA NON FORNITI

Reattivi

- Reattivi: NIT 1 + NIT 2 (Cod. 70 442)
ZYM A (Cod. 70 494)
ZYM B (Cod. 70 493)
PYZ (Cod. 70 492)
- Olio di paraffina (Cod. 70 100)
- Perossido di idrogeno (3 %)
- DENSIMAT (Cod. 99 234)
- Indice Analitico API CORYNE (Cod. 20 990) o software di identificazione **apiweb™** (Cod. 40 011) (consultare bioMérieux))
- Agar Columbia al sangue con CNA (Cod. 43 071) o senza CNA (Cod. 43 041) o Trypticasi Soia al sangue (Cod. 43 001)

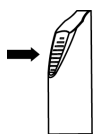
Materiali

- Pipette o PSlpette
- Porta-fiale
- Proteggi-fiale
- Tamponi
- Materiale generico per laboratorio di microbiologia.

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 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 informazioni complementari sulle precauzioni nella manipolazione, fare riferimento a "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – CDC/NIH - Ultima edizione", oppure alla legislazione in vigore nel paese di utilizzazione.
- Non utilizzare i reattivi dopo la data di scadenza.
- Prima dell'uso verificare l'integrità dell'imballaggio e dei componenti.
- Non utilizzare gallerie che abbiano subito una alterazione fisica : cupole deformate, ...
- Si raccomanda di eseguire un controllo di qualità prima di utilizzare ogni nuova fiala del reattivo ZYM B.

- Aprire le fiale delicatamente come indicato di seguito :
 - 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.

Le fiale di API Suspension Medium si conservano a 2-30°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 la galleria API Coryne.

I microrganismi da identificare devono prima essere isolati su un terreno di coltura adatto, secondo le normali tecniche batteriologiche.

PROCEDIMENTO

Selezione delle colonie

Dopo aver verificato l'appartenenza del ceppo da identificare al gruppo dei bacilli Gram-positivi, non-sporulati, aero-anaerobici facoltativi :

- Annotare il tipo di emolisi.
- Prelevare una colonia ben isolata e sospenderla in 0.3 ml di acqua sterile.
- Inondare una piastra di agar (agar Trypticasi Soia + 5% di sangue di montone o agar Columbia + 5% di sangue di montone con o senza CNA) con questa sospensione (o seminare in condizioni di sterilità tutta la superficie dell'agar con un tampone).
- Incubare la piastra per 24 - 48 ore a 37°C.

Preparazione della galleria

- Preparare una vaschetta di incubazione (fondo e coperchio) 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 ...)] nei pozzetti del fondo della vaschetta per creare un ambiente umido.
- Annotare il riferimento 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 dal suo involucro.
- Mettere la galleria nella vaschetta di incubazione.

Preparazione dell'inoculo

- Aprire una fiala di API Suspension Medium come indicato al paragrafo "Avvertenze e Precauzioni".
- Con l'aiuto di un tampone, prelevare tutta la coltura precedentemente preparata. Utilizzare preferibilmente colonie giovani (24-48 ore).
- Preparare una sospensione di opacità superiore a quella del punto **6 di McFarland**. Questa sospensione deve essere preparata al momento dell'uso.

Inoculo della galleria

- Distribuire la sospensione preparata nei primi undici test della galleria (da NIT a GEL), evitando la formazione di bolle (a tal fine, inclinare in avanti la vaschetta di incubazione e appoggiare la punta della pipetta o PSlpetta sul lato interno della cupola) :
 - per i test da NIT a ESC: distribuire circa 100-150 µl in ogni cupola.
 - per il test URE: riempire soltanto la microprovetta.
 - per il test GEL : riempire microprovetta e cupola.
- Negli ultimi nove test della galleria (da Q a GLYG) :
 - aprire una fiala di API GP Medium come indicato al paragrafo "Avvertenze e Precauzioni" e trasferirvi il resto della sospensione precedente (circa 0,5 ml). Omogeneizzare bene.
 - distribuire questa nuova sospensione soltanto nelle microprovette.
- Riempire le cupole dei test sottolineati (URE, da Q a GLYG) con olio di paraffina formando un menisco leggermente convesso.
- Chiudere la vaschetta di incubazione.
- Incubare per 24 ore (± 2 ore) a 36°C ± 2°C in **aerobiosi**.

LETTURA ED INTERPRETAZIONE

Letture della galleria

Dopo l'incubazione:

- Aggiungere i reattivi :
 - test NIT: 1 goccia di NIT 1 e di NIT 2
 - test PYZ: 1 goccia di PYZ
 - test PyrA, PAL, βGUR, βGAL, αGLU, βNAG: 1 goccia di ZYM A e di ZYM B (*).
- (*) **Si raccomanda di controllare** ogni fiala di reattivo ZYM B prima della 1^a utilizzazione.
- Per far questo, si raccomanda di utilizzare il **ceppo ATCC® 27402** menzionato nel paragrafo Controllo di Qualità per escludere qualsiasi reattivo difettoso.
- Attendere 10 minuti, quindi leggere tutte le reazioni facendo riferimento alla Tabella di Lettura. Se necessario, esporre per 10 secondi la galleria ad una lampada potente (1000 W), per decolorare il reattivo in eccesso nelle provette da PyrA a βNAG.
- Eseguire il test CATalasi (utilizzato come 21° test) : aggiungere 1 goccia di acqua ossigenata al 3 % nei test ESC o GEL. Attendere 1 minuto. La comparsa di **bolle** corrisponde ad una reazione **positiva**.
- Annotare tutte le reazioni sulla scheda dei risultati.

Identificazione

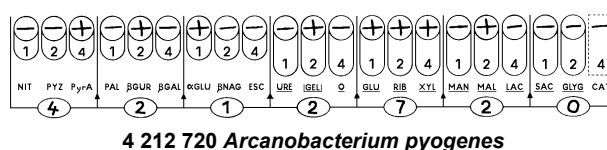
L'identificazione si ottiene partendo da un **profilo numerico**.

- Determinazione del profilo numerico :

Sulla scheda dei risultati i test sono divisi in gruppi di tre e per ciascuno di essi è indicato un valore pari a 1, 2 o 4. Sommando all'interno di ciascun gruppo di test i valori corrispondenti alle reazioni positive, si ottiene un numero di 7 cifre che costituisce il profilo numerico. La reazione della catalasi costituisce il 21^{mo} test ed ha il valore 4 se la reazione è positiva.

- Identificazione :
Si ottiene partendo dalla base dei dati (V3.0)
* con l'ausilio dell'Indice Analitico :
- Cercando il profilo numerico nella lista dei profili.

* con l'ausilio del software di identificazione **apiweb™** :
- Digitando manualmente, sulla tastiera, il profilo numerico a 7 cifre.



CONTROLLO DI QUALITA'

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 Coryne. 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.

Per valutare le performance del test XYL, il controllo può essere fatto utilizzando il ceppo **Corynebacterium renale ATCC® 19412**. Studi eseguiti da bioMérieux hanno mostrato che sulla galleria API Coryne il test XYL è il test più sensibile. Quando viene eseguito il controllo, l'integrità della galleria può essere verificata utilizzando il ceppo **Corynebacterium renale ATCC 19412**.

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

1. *Corynebacterium renale* ATCC 19412
2. *Cellulosimicrobium cellulans* ATCC 27402
3. *Microbacterium testaceum* * ATCC 15829

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

	NIT	PYZ	PyrA	PAL	βGUR	βGAL	αGLU	βNAG	ESC	URE	LGEL	0	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT
1.	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
2.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	V	-	+	+	+	-	+	-	+	V	+
3.	-	+	-	V	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

* Non incluso nella base dei dati.

- Profili ottenuti dopo coltura su agar Columbia + 5% di sangue di montone (cod. 43 041).
- Inoculo aggiustato tra il punto 6 e 7 della scala McF con il DENSIMAT.

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

LIMITI DEL METODO

- Il sistema API Coryne è destinato all'identificazione dei batteri corineiformi (genere *Corynebacterium* e generi affini) presenti 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. La base dei dati di questo prodotto è limitata ai batteri corineiformi più frequenti nei prelievi clinici.
- Devono essere utilizzate unicamente colture pure contenenti un solo tipo di microrganismo.
- Talvolta le reazioni biochimiche della gallerie API Coryne non permettono di differenziare due specie ed è necessario effettuare dei test supplementari : in questi casi compare una nota. La descrizione dei test ed i riferimenti bibliografici sono indicati nell'Indice Analitico e nella Brochure Tecnica "Informazioni biologiche per i software di identificazione".
- Nel caso in cui l'organismo è stato identificato come *C. diphtheriae*, si devono eseguire dei test di tossigenicità per stabilire se il germe è patogeno.
- L'opacità della sospensione batterica deve essere uguale o maggiore al punto **6 di McFarland**. Con sospensioni di opacità inferiore al punto **6 di McFarland** le performance della galleria API Coryne rischiano di essere compromesse. Le sospensioni con opacità superiore al punto **6 di McFarland** migliorano le performance del test.

RISULTATI ATTESI

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

PERFORMANCE

Sono stati saggiati 1880 ceppi di origine diversa e ceppi di collezione appartenenti alle specie incluse nella base dei dati :

- il 97.71 % dei ceppi è stato correttamente identificato (con o senza test complementari).
- l'1.28 % dei ceppi non è stato identificato.
- l'1.01 % dei ceppi non è stato identificato correttamente.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Le fiale di API Suspension Medium e McFarland non utilizzati possono essere smaltiti come rifiuti non pericolosi.

Smaltire tutti i reattivi utilizzati o non utilizzati (ad esclusione dei fiale di API Suspension Medium e McFarland) 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 in conformità alla legislazione vigente.

TABELLA DI LETTURA

TEST	COMPONENTI ATTIVI	QT.A' (mg/cup.)	REAZIONI/ENZIMI	RISULTATI	
				NEGATIVO	POSITIVO
NIT	nitrato di potassio	0.136	Riduzione dei NITrati	NIT 1 + NIT 2 / 10 min incoloro rosa molto chiaro	
PYZ	pirazina carbossamide	0.56	PiraZinamidasi	PYZ / 10 min incoloro marrone molto chiaro arancione molto chiaro	
PYRA	Acido piroglutamico- β-naftilamide	0.0256	PiRrolidonil Arilamidase	ZYM A + ZYM B (PyrA → βNAG) / 10 min incoloro arancione chiaro	
PAL	2-naftil-fosfato	0.0244	Fosfatasi ALcalina	incoloro beige – porpora chiaro arancione chiaro	porpora
βGUR	acido naftol ASBI- glucuronico	0.0548	β-GlucURonidasi	incoloro grigio chiaro beige chiaro	blu
βGAL	2-naftil-βD-galattopiranoside	0.0312	β-GALattosidasi	incoloro beige – porpora chiaro	porpora
αGLU	2-naftil-αD-glucopiranoside	0.0308	α-GLUcosidasi	incoloro beige – porpora chiaro verde chiaro	porpora
βNAG	1-naftil-N-acetil- βD-glucosaminide	0.0348	N-Acetil-β-Glucosaminidasi	incoloro beige – porpora chiaro marrone chiaro grigio chiaro	marrone
ESC	esculina citrato ferrico	0.546 0.078	β-glucosidasi (ESCulina)	incoloro grigio	nero
URE	urea	0.76	UREasi	giallo arancione	rosso rosa
[GEL]	gelatina (origine bovina)	0.6	Idrolisi (GELatina)	nessuna diffusione di pigmento nero	diffusione di pigmento nero
0	Controllo Negativo	–	Fermentazione	rosso arancione	giallo giallo - arancione
GLU	D-glucosio	1.56	Fermentazione (GLUcosio)		
RIB	D-ribosio	1.4	Fermentazione (RIBosio)		
XYL	D-xilosio	1.4	Fermentazione (XiLosio)		
MAN	D-mannitolo	1.36	Fermentazione (MANnitolo)		
MAL	D-maltosio	1.4	Fermentazione (MALtosio)		
LAC	D-lattosio (origine bovine)	1.4	Fermentazione (LAttosio)		
SAC	D-saccarosio (zucchero)	1.32	Fermentazione (SACcarosio)		
GLYG	Glicogeno	1.28	Fermentazione (GLicoGeno)		
CAT	(test ESC o [GEL])	–	CATalasi	H ₂ O ₂ (3 %) / 1 min assenza di bolle presenza di bolle	

- 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 ed **apiweb** sono marchi utilizzati, depositati e/o registrati di proprietà di bioMérieux SA o di una delle sue filiali.

ATCC è un marchio 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 das bactérias corineformes

INTRODUÇÃO E OBJECTIVO DO TESTE

O API Coryne é um sistema padronizado para a identificação de bactérias corineformes, em 24 horas, que utiliza mini-testes e uma base de dados específica. A lista completa das bactérias possíveis de identificar com este sistema está presente no Quadro de Identificação no final deste folheto informativo.

PRINCÍPIO

O API Coryne é composto por uma galeria constituída por 20 microtubos que contêm substratos desidratados para a detecção das actividades enzimáticas ou a fermentação dos açúcares.

Os testes enzimáticos são inoculados com uma suspensão densa que rehidrata os substratos enzimáticos. As reacções produzidas durante o período de incubação traduzem-se por viragens de cor espontâneas ou reveladas pela adição de reagentes.

Os testes de fermentação são inoculados com um meio enriquecido (contendo um indicador de pH) que rehidrata os substratos açúcarados. A fermentação dos carboidratos provoca uma acidificação que se traduz por uma viragem espontânea do indicador de cor.

Após incubação, a leitura destas reacções faz-se com o Quadro de Leitura e a identificação é obtida consultando o Catálogo Analítico ou um sistema de identificação.

APRESENTAÇÃO (embalagem de 12 testes)

- 12 galerias API Coryne
- 12 ampolas de API GP Medium
- 12 ampolas de API Suspension Medium, 3 ml
- 1 ampola McFarland, ponto 6
- 12 fichas de resultados
- 12 caixas de incubação
- 1 folheto informativo

COMPOSIÇÃO

Galeria

A composição da galeria API Coryne está indicada no quadro de leitura deste folheto informativo.

Meios

API GP Medium 2 ml	L-cistina Triptona (origem bovina/porcina) Cloreto de sódio Sulfito de sódio Vermelho de fenol Água desmineralizada pH : 7,4 - 7,8	0,5 g 20 g 5 g 0,5 g 0,17 g qsp 1000 ml
API Suspension Medium 3 ml	Água desmineralizada	
Padrão 6 de McFarland	BaSO ₄	2,88 10 ⁻⁴ mol/l

As quantidades indicadas podem ser ajustadas em função dos títulos das matérias-primas.

REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Reagentes

- Reagentes: NIT 1 + NIT 2 (Ref. 70 442)
ZYM A (Ref. 70 494)
ZYM B (Ref. 70 493)
PYZ (Ref. 70 492)
- Óleo de parafina (Ref. 70 100)
- Peróxido de hidrogénio (3%)
- DENSIMAT (Ref. 99 234)
- Catálogo Analítico API Coryne (Ref. 20 990) ou sistema de identificação **apiweb™** (Ref. 40 011) (consultar a bioMérieux)
- Gelose Columbia ANC com sangue de carneiro (Ref. 43 071) ou sem ANC (Ref. 43 041) ou Trypcase Soja com sangue (Ref. 43 001)

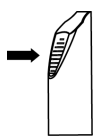
Materiais

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

PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

- **Para uso em 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, ...
- É aconselhado efectuar um controlo de qualidade antes de utilizar cada nova ampola de reagente ZYM B.

- 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 foi obtido com o procedimento indicado neste folheto informativo. Qualquer desvio ao procedimento 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 e, eventualmente, os resultados de outros testes, especialmente, do antibiograma.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

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

As ampolas de API Suspension Medium conservam-se a 2° - 30° C até à data de validade indicada na embalagem.

AMOSTRAS (COLHEITA/COLETA E PREPARAÇÃO)

O API Coryne não deve ser utilizado directamente a partir de amostras de origem clínica ou outra.

Os microrganismos a identificar devem primeiro ser isolados num meio de cultura adaptado segundo as técnicas habituais de bacteriologia.

PROCEDIMENTO

Seleção das colónias

Após o isolamento e de verificar se a estirpe/cepa a identificar pertence ao grupo dos bacilos Gram positivos, não esporulados, aero-anaeróbios facultativos:

- Anotar o tipo de hemólise.
- Colher/coletar uma colónia bem isolada e colocá-la em suspensão em 0,3 ml de água destilada estéril.
- Inundar uma placa de gelose (gelose Trypcase Soja + 5% sangue de carneiro ou Columbia + 5% sangue de carneiro com ou sem ANC) com esta suspensão (ou passar com a zaragatoa/swab esterilmente em toda a superfície da gelose).
- Incubar a placa 24 - 48 horas a 37° C.

Preparação da galeria

- Reunir fundo e tampa de uma caixa de incubação e distribuir aproximadamente 5 ml de água destilada estéril ou desmineralizada [ou qualquer água sem aditivo ou derivados susceptíveis de libertarem gases (Ex : Cl₂, CO₂ ...)] para os alvéolos do fundo 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).
- Tirar a galeria da sua embalagem individual.
- Colocar a galeria na caixa de incubação.

Preparação do inóculo

- Abrir uma ampola de API Suspension Medium como indicado no parágrafo "Precauções de utilização".
- Com uma zaragatoa/swab, colher/coletar toda a cultura previamente preparada. Utilizar preferencialmente culturas recentes (24-48 horas).
- Efectuar uma suspensão com opacidade superior à do ponto **6 de McFarland**. Esta suspensão deve ser utilizada extemporaneamente.

Inoculação da galeria

- Nos primeiros onze testes da galeria (testes NIT com GEL) distribuir a suspensão anterior evitando a formação de bolhas (para isso, inclinar a caixa de incubação para a frente e colocar a ponta da pipeta ou da PSlpeta ao lado da cúpula):
 - para os testes NIT a ESC: aproximadamente 100-150 µl em cada cúpula.
 - para o teste URE: encher unicamente o tubo.
 - para o teste GEL: encher tubo e cúpula.
- Nos nove últimos testes da galeria (testes Q a GLYG):
 - abrir uma ampola de API GP Medium como indicado no parágrafo "Precauções de utilização" e para aí transferir o resto da suspensão, ou seja, aproximadamente 0,5 ml. Homogeneizar correctamente.
 - Distribuir esta nova suspensão unicamente nos tubos.
- Encher as cúpulas dos testes sublinhados URE, Q a GLYG com o óleo de parafina formando um ligeiro menisco convexo.
- Fechar a caixa de incubação.
- Incubar 24 horas (± 2 horas) a 36° C ± 2° C em **aerobiose**.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO

Leitura da galeria

Após incubação:

- Adicionar os reagentes:
 - teste NIT: 1 gota de NIT 1 e de NIT 2
 - teste PYZ: 1 gota de PYZ
 - testes PyrA, PAL, βGUR, βGAL, αGLU, βNAG : 1 gota de ZYM A e ZYM B (*).
- (* **É aconselhado controlar** cada ampola de reagente ZYM B antes da 1ª utilização. Para isso, recomenda-se a utilização **da estirpe/cepa ATCC® 27402** indicada no parágrafo Controlo de Qualidade para excluir qualquer reagente defeituoso.
- Esperar 10 minutos, em seguida ler todas as reacções consultando o Quadro de Leitura. Se necessário, expôr a galeria a uma lâmpada forte (1000 W) 10 segundos para descolorar o reagente em excesso nos tubos PyrA a βNAG.
- Efectuar o teste CATalase (utilizado como 21º teste): adicionar 1 gota de peróxido de hidrogénio com 3 % no teste ESC ou GEL. Esperar 1 minuto. O aparecimento de **bolhas** corresponde a uma reacção **positiva**.
- Anotar todas as reacções na ficha de resultados.

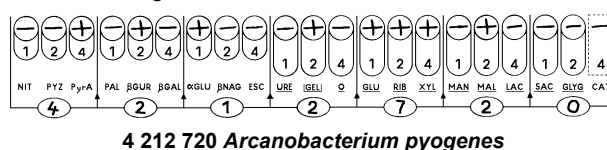
Interpretação

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 no interior de cada grupo os valores correspondentes às reacções positivas, obtém-se um perfil numérico de 7 algarismos; a reacção de catalase que constitui o 21º teste é afectada ao valor 4 se for positiva.

- Identificação:
 - É efectuada a partir da base de dados (V3.0)
 - * com o Catálogo Analítico:
 - Procurar o perfil numérico na lista de perfis.

- * com o programa de identificação **apiweb™**:
 - Introduzir manualmente no teclado o perfil numérico com 7 algarismos.



CONTROLO DE QUALIDADE

O Controlo de Qualidade Mínimo pode ser utilizado para verificar que as condições de armazenamento e de transporte não tiveram impacto no comportamento funcional da galeria API Coryne. Este controlo pode ser efectuado seguindo as instruções e critérios esperados acima em relação ao referencial CLSI M50-A Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems.

O controlo pode ser efectuado utilizando a estirpe/cepa ***Corynebacterium renale* ATCC® 19412** para avaliar o comportamento funcional do teste XYL. Os estudos efectuados pela bioMérieux demonstraram que na galeria API CORYNE, o teste XYL é o teste mais sensível. Ao efectuar o controlo, a integridade da galeria pode ser verificada utilizando a estirpe/cepa *Corynebacterium renale* ATCC 19412.

No caso de Controlo de Qualidade Completo, é exigido para esta galeria que seja efectuado o teste com as três estirpes/cepas seguintes para verificar as reacções positivas e negativas da maioria dos testes da galeria API Coryne.

1. *Corynebacterium renale* ATCC 19412
2. *Cellulosimicrobium cellulans* ATCC 27402
3. *Microbacterium testaceum* * ATCC 15829

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

	NIT	PYZ	PyrA	PAL	βGUR	βGAL	αGLU	βNAG	ESC	URE	LGEL	0	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT
1.	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
2.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	V	-	+	+	+	-	+	-	+	V	+
3.	-	+	-	V	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

* ausente da base de dados.

- Perfis obtidos após cultura em gelose Columbia + 5% de sangue de carneiro (ref. 43 041).
- Inóculo ajustado entre 6 e 7 McF com o DENSIMAT.

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 Coryne destina-se à identificação das bactérias corineformes (género *Corynebacterium* e géneros semelhantes) presentes na base de dados (consultar o Quadro de Identificação no final do folheto informativo) e apenas a estas. Não pode ser utilizado para identificar outros microrganismos ou excluir a sua presença. A base de dados deste produto diz respeito essencialmente às bactérias corineformes mais frequentemente isoladas em amostras clínicas.
- Devem ser utilizadas apenas as culturas puras contendo um único tipo de microrganismo.
- Por vezes, as reacções bioquímicas da galeria API Coryne não permitem diferenciar 2 espécies e são necessários testes complementares, neste caso, aparece uma nota. A descrição destes testes e as referências bibliográficas são indicadas no Catálogo Analítico e na Brochura Técnica "Informações biológicas para os sistemas de identificação".
- Se for identificada *C. diphtheriae*, devem ser efectuados testes toxogénicos para determinar se o microrganismo é patogénico.
- A opacidade da suspensão bacteriana deve ser igual ou superior a **6 de McFarland**. Com uma suspensão com opacidade inferior a **6 de McFarland**, o comportamento funcional da galeria API Coryne pode ser afectado. As suspensões com opacidade superior a **6 de McFarland** melhoram o comportamento funcional.

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 1880 estirpes/cepas de diversas origens e estirpes/cepas de colecção pertencentes às espécies da base de dados:

- 97,71 % das estirpes/cepas foram correctamente identificadas (com ou sem testes complementares).
- 1,28 % das estirpes/cepas não foram identificadas.
- 1,01 % das estirpes/cepas foram mal identificadas.

ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS

As ampolas de API Suspension Medium e McFarland não utilizados podem ser eliminados como resíduos não perigosos.

Eliminar todos os reagentes utilizados ou não utilizados (que não as ampolas de API Suspension Medium e McFarland) assim como os materiais de utilização única 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	QTD (mg/cúp.)	REACÇÕES/ENZIMAS	RESULTADOS	
				NEGATIVO	POSITIVO
NIT	Nitrato de potássio	0,136	Redução dos NITratos	NIT 1 + NIT 2 / 10 min incolor rosa muito pálido	
PYZ	pirazina carboxamida	0,56	PYraZinamidase	PYZ / 10 min incolor castanho muito pálido laranja muito pálido	
PYRA	ácido piroglutâmico- β-naftilamida	0,0256	PYRrolidonil Arilamidase	ZYM A + ZYM B (PyrA → βNAG) / 10 min incolor laranja pálido	
PAL	2-naftil-fosfato	0,0244	Fosfatase ALcalina	incolor bege – púrpura pálido laranja pálido	
βGUR	ácido naftol-ASBI- glucurónico	0,0548	β-GlucURonidase	incolor cinzento pálido bege pálido	
βGAL	2-naftil-βD-galactopiranosida	0,0312	β-GALactosidase	incolor bege – púrpura pálido	
αGLU	2-naftil-αD-glucopiranosida	0,0308	α-GLUcosidase	incolor bege – púrpura pálido verde pálido	
βNAG	1-naftil-N-acetil- βD-glucosaminida	0,0348	N-Acetil-β-Glucosaminidase	incolor bege – púrpura pálido castanho pálido cinzento pálido	
ESC	esculina citrato de ferro	0,546 0,078	β-glucosidase (ESCulina)	incolor cinzento	
URE	ureia	0,76	UREase	amarelo laranja	
[GEL]	gelatina (origem bovina)	0,6	Hidrólise (GELatina)	sem difusão de pigmento negro	
Q	Controlo negativo	–	Fermentação		
GLU	D-glucose	1,56	Fermentação (GLUcose)		
RIB	D-ribose	1,4	Fermentação (RIBose)		
XYL	D-xilose	1,4	Fermentação (XYLose)		
MAN	D-manitol	1,36	Fermentação (MANitol)		
MAL	D-maltose	1,4	Fermentação (MALtose)		
LAC	D-lactose (origem bovina)	1,4	Fermentação (LACtose)		
SAC	D-sacarose	1,32	Fermentação (SACarose)		
GLYG	glicogénio	1,28	Fermentação (GLYcoGénio)		
CAT	(teste ESC ou [GEL])	–	CATalase	H ₂ O ₂ (3 %) / 1 min Ausência de bolhas Presença de bolhas	

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

PROCEDIMENTO	p. I
QUADRO DE IDENTIFICAÇÃO	p. II
BIBLIOGRAFIA	p. III
QUADROS 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, 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 biolab-Mérieux, 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
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomérieux.com

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



Σύστημα ταυτοποίησης για κορυνόμορφα βακτηρίδια

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Το API Coryne αποτελεί ένα προτυποποιημένο σύστημα για την ταυτοποίηση κορυνόμορφων βακτηριδίων σε 24 ώρες, το οποίο χρησιμοποιεί εξετάσεις σε μικρογραφία και μια ειδικά προσαρμοσμένη 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 Coryne αποτελείται από 20 μικροσωλήνες που περιέχουν αφυδατωμένα υποστρώματα για την εκδήλωση ενζυμικής δραστηριότητας ή τη ζύμωση υδατανθράκων.

Οι ενζυμικές εξετάσεις ενοφθαλμίζονται με ένα πυκνό εναιώρημα οργανισμών, το οποίο προκαλεί ανασύσταση των ενζυμικών υποστρωμάτων. Κατά τη διάρκεια της επώασης, ο μεταβολισμός προκαλεί χρωματικές μεταβολές που είτε είναι αυτόματες είτε αποκαλύπτονται με την προσθήκη των αντιδραστηρίων.

Οι εξετάσεις ζύμωσης ενοφθαλμίζονται με ένα εμπλουτισμένο υλικό (που περιέχει ένα δείκτη pH), το οποίο προκαλεί ανασύσταση των υποστρωμάτων σακχάρου. Η ζύμωση των υδατανθράκων έχει ως αποτέλεσμα την οξίνιση, η οποία ανιχνεύεται μέσω μιας αυτόματης χρωματικής μεταβολής του δείκτη pH.

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

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΤΗΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ (Συσκευασία για 12 εξετάσεις)

- 12 ταινίες API Coryne
- 12 φύσιγγες API GP Medium
- 12 φύσιγγες API Suspension Medium, 3 ml
- 1 φύσιγγα McFarland, σημείο 6
- 12 φύλλα αποτελεσμάτων
- 12 κυτία επώασης
- 1 εσώκλειστο οδηγίου

ΣΥΝΘΕΣΗ

Ταινία

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

Υλικά

API GP Medium 2 ml	L-κυστίνη Τρυπτόνη (βόειος/χοίρειος προέλευση) Χλωριούχο νάτριο Θειώδες νάτριο Ερυθρό της φαινόλης Απιονισμένο ύδωρ για να γίνουν 1000 ml pH : 7,4 – 7,8	0,5 g 20 g 5 g 0,5 g 0,17 g
API Suspension Medium 3 ml	Απιονισμένο ύδωρ	
McFarland Standard 6	BaSO ₄	2,88 10 ⁻⁴ mol/l

Οι αναγραφόμενες ποσότητες μπορούν να ρυθμίζονται ανάλογα με τον τίτλο των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται.

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΜΗ ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

Αντιδραστήρια

- Αντιδραστήρια : NIT 1 + NIT 2 (Κωδ. 70 442)
ZYM A (Κωδ. 70 494)
ZYM B (Κωδ. 70 493)
PYZ (Κωδ. 70 492)
- Mineral oil (Κωδ. 70 100)
- Υπεροξειδίο υδρογόνου (3 %)
- DENSIMAT (Κωδ. 99 234)
- Κατάλογος Αναλυτικών Προφίλ API Coryne (Κωδ. 20 990) ή λογισμικό ταυτοποίησης **apiweb™** (Κωδ. 40 011) (συμβουλευθείτε την bioMérieux)
- Αιματούχο άγαρ Columbia με CNA (Κωδ. 43 071) ή χωρίς CNA (Κωδ. 43 041) ή Τρυπτικήση Σόγια + αίμα (Κωδ. 43 001)

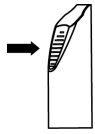
Υλικά

- Πιπέττες ή PSIpettes
- Εσχάρα για φύσιγγες
- Προστατευτική συσκευή φυσίγγων
- Στυλεοί
- 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 συνήθειες προφυλάξεις χειρισμού για τη μελετώμενη βακτηριακή ομάδα θα πρέπει να τηρούνται σε όλη την διάρκεια της διαδικασίας. Αναφερθείτε στο έγγραφο "CLSI M29-A, *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.
- Συνιστάται να πραγματοποιείτε μια εξέταση ποιοτικού ελέγχου όταν ανοίγετε μια νέα φύσιγγα αντιδραστηρίου ZYM B.

- 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 εσώκλειστο 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.

Οι φύσιγγες API Suspension Medium μπορούν να φυλάσσονται στους 2-30°C μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στη συσκευασία.

ΔΕΙΓΜΑΤΑ (ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ)

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

Οι μικροοργανισμοί προς ταυτοποίηση πρέπει πρώτα να απομονωθούν σε ένα κατάλληλο υλικό καλλιέργειας σύμφωνα με πρότυπες μικροβιολογικές τεχνικές.

ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

Επιλογή των αποικιών

Μόλις το στέλεχος που πρόκειται να ταυτοποιηθεί έχει απομονωθεί και πιστοποιηθεί ως μέλος της ομάδας των Gram-θετικών, μη-σχηματιζόντων σπόρια, δυναμικά αερο-αναερόβιων βακτηρίων :

- Σημειώστε το είδος της αιμόλυσης.
- Λάβετε μια καλά απομονωμένη αποικία και εναιωρήστε την σε 0,3 ml στειρού ύδατος.
- Γεμίστε πλήρως ένα τρυβλίο άγαρ (άγαρ Τρυπτική Σόγια + 5% αίμα προβάτου ή άγαρ Columbia + 5% αίμα προβάτου με ή χωρίς CNA) με αυτό το εναιώρημα (ή ασηπτικά επιστρώστε ολόκληρη την επιφάνεια του άγαρ).
- Επώαστε το τρυβλίο για 24 - 48 ώρες στους 37°C.

Προετοιμασία της ταινίας

- Προετοιμάστε ένα καυτό 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.)] στις κυψέλες του δίσκου για να δημιουργηθεί μια υγρή ατμόσφαιρα.
- Καταγράψτε τον κωδικό του στελέχους στο επίμηκες περυσίο του δίσκου. (Μην καταγράψετε 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 καυτό επώασης.

Προετοιμασία του εναιωρήματος

- Ανοίξτε μια φύσιγγα API Suspension Medium όπως υποδεικνύεται στην παράγραφο "Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις".
- Χρησιμοποιώντας ένα στυλεό, συλλέξτε όλη την καλλιέργεια από το τρυβλίο ανακαλλιέργειας που έχει προετοιμαστεί προηγουμένως. Συνιστάται να χρησιμοποιείτε νέες καλλιέργειες (24-48 ωρών).
- Φτιάξτε ένα πυκνό εναιώρημα με θολερότητα μεγαλύτερη από **6 McFarland**. Το εναιώρημα αυτό πρέπει να χρησιμοποιηθεί αμέσως μετά την προετοιμασία.

Ενοφθαλμισμός της ταινίας

- Στις πρώτες έντεκα εξετάσεις της ταινίας (εξετάσεις NIT έως [GEL]) διανείμετε το εναιώρημα που προέκυψε, αποφεύγοντας τον σχηματισμό φυσαλίδων (γείρετε την ταινία ελαφρώς προς τα εμπρός και τοποθετήστε το ρύγχος της πιπέτας ή της PSipette στην πλαϊνή επιφάνεια του κυπέλιου) :
 - Για τις εξετάσεις NIT έως ESC : διανείμετε περίπου 100-150 μl σε κάθε κυπέλιο.
 - Για την εξέταση URE : γεμίστε μόνο το σωληνάριο.
 - Για την εξέταση [GEL] : γεμίστε και το σωληνάριο και το κυπέλιο.
- Στις τελευταίες εννέα εξετάσεις της ταινίας (εξετάσεις Q έως GLYG) :
 - Ανοίξτε μια φύσιγγα API GP Medium όπως υποδεικνύεται στην παράγραφο "Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις" και μεταφέρετε το υπόλοιπο του εναιωρήματος μέσα σε αυτήν (περίπου 0,5 ml). Αναδεύστε έντονα.
 - Διανείμετε αυτό το νέο εναιώρημα μόνον μέσα στα σωληνάρια.
- Γεμίστε το κυπέλιο των υπογραμμισμένων εξετάσεων (URE, και Q έως GLYG) με παραφινέλαιο για να σχηματίσετε έναν κυρτό μηνίσκο.
- Τοποθετήστε το κάλυμμα επάνω στο δίσκο.
- Επώαστε για 24 ώρες (± 2 ώρες) στους 36°C ± 2°C σε **αερόβιες** συνθήκες.

ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

Ανάγνωση της ταινίας

Μετά την περίοδο επώασης :

- Προσθέστε τα αντιδραστήρια :
 - εξέταση NIT : 1 σταγόνα NIT 1 και 1 σταγόνα NIT 2
 - εξέταση PYZ : 1 σταγόνα PYZ
 - εξετάσεις PygA, PAL, βGUR, βGAL, αGLU, βNAG : 1 σταγόνα ZYM A και 1 σταγόνα ZYM B (*).
- (*) **Συνιστάται να ελέγχετε** κάθε φύσιγγα ZYM B πριν τη χρησιμοποιήσετε για πρώτη φορά.
Για να γίνει αυτό συνιστάται να χρησιμοποιείτε το **στέλεχος ATCC® 27402** που αναγράφεται στην παράγραφο Ποιοτικός Έλεγχος με σκοπό να αποβληθούν τυχόν ελαττωματικά αντιδραστήρια.
- Περιμένετε 10 λεπτά, έπειτα διαβάστε όλες τις αντιδράσεις σύμφωνα με τον Πίνακα Ανάγνωσης. Εάν είναι απαραίτητο, εκθέστε την ταινία σε δυνατό φως (1000 W) για 10 δευτερόλεπτα για να αποχρωματίσετε οποιαδήποτε περιττά αντιδραστήρια σε σωληνάρια PygA έως βNAG.
- Πραγματοποιήστε την εξέταση CATalase (που χρησιμοποιείται ως η 21η εξέταση) : προσθέστε 1 σταγόνα υπεροξειδίου υδρογόνου (3 %) στην εξέταση ESC ή [GEL]. Περιμένετε 1 λεπτό. Η εμφάνιση **φυσαλίδων** αντιστοιχεί σε **θετική** αντίδραση.
- Καταγράψτε όλες τις αντιδράσεις στο φύλλο αποτελεσμάτων.

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 μία δίνεται τιμή 1, 2 ή 4. Αθροίζοντας μεταξύ τους τις τιμές που αντιστοιχούν σε θετικές αντιδράσεις μέσα σε κάθε ομάδα, προκύπτει ένας 7ψήφιος αριθμός προφίλ ο οποίος αποτελεί το αριθμητικό προφίλ. Η αντίδραση καταλάσης αποτελεί την 21η εξέταση και έχει την τιμή 4 εάν είναι θετική.

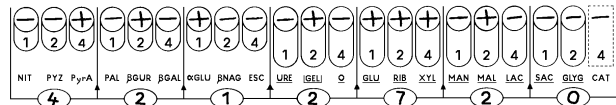
- Ταυτοποίηση : Εκτελείται χρησιμοποιώντας τη βάση δεδομένων (V3.0)

* 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.



4 212 720 *Arcanobacterium pyogenes*

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Τα υλικά, οι ταινίες και τα αντιδραστήρια ελέγχονται συστηματικά σε διάφορα στάδια της παραγωγής τους.

Εκλογικευμένος Ποιοτικός Έλεγχος μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να επιβεβαιωθεί η αποδεκτή απόδοση του συστήματος API Coryne 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).

Η εξέταση μπορεί να διεξαχθεί χρησιμοποιώντας **Corynebacterium renale ATCC® 19412** για την αξιολόγηση της απόδοσης των εξετάσεων XYL. Οι εξετάσεις που πραγματοποιήθηκαν από τη bioMérieux έχουν δείξει ότι η εξέταση XYL είναι η πιο ασταθής στο API Coryne. Όταν εξετάζεται η ταινία, ο *Corynebacterium renale* ATCC 19412 μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση αποδόμησης.

Για εκείνους τους χρήστες που επιθυμούν να διεξάγουν **αναλυτική εξέταση ποιοτικού ελέγχου** με την ταινία, θα πρέπει να εξετάζονται τα 3 παρακάτω στελέχη για να εκδηλώνετε θετική και αρνητική αντιδραστικότητα για τις περισσότερες από τις εξετάσεις API Coryne.

1. *Corynebacterium renale* ATCC 19412
2. *Cellulosimicrobium cellulans* ATCC 27402
3. *Microbacterium testaceum* * ATCC 15829

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

	NIT	PYZ	PyrA	PAL	βGUR	βGAL	αGLU	βNAG	ESC	URE	LGEL	0	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT	
1.	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
2.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	V	-	+	+	+	-	+	-	+	V	-	+
3.	-	+	-	V	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

* Δεν συμπεριλαμβάνεται στη βάση δεδομένων.

- Προφίλ που προέκυψε μετά από καλλιέργεια με άγαρ Columbia + 5% αίμα προβάτου (κωδ. 43 041).
- Ελαιώδη που ρυθμίστηκε μεταξύ 6 και 7 McF χρησιμοποιώντας DENSIMAT.

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

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΜΕΘΟΔΟΥ

- Το σύστημα API Coryne προορίζεται μοναδικά για την ταυτοποίηση κορυνόμορφων βακτηριδίων (γένος *Corynebacterium* και σχετικά γένη) που περιλαμβάνονται στη βάση δεδομένων (δείτε Πίνακα Ταυτοποίησης στο τέλος αυτού του εσωκλειστού οδηγίου). Δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να ταυτοποιήσει οποιοσδήποτε άλλους μικροοργανισμούς ή για να αποκλείσει την παρουσία τους. Η βάση δεδομένων αυτού του προϊόντος περιορίζεται σε εκείνα τα κορυνόμορφα βακτηρίδια που απομονώνονται περισσότερο συχνά από κλινικά δείγματα.
- Μόνο καθαρές καλλιέργειες αποκλειστικά ενός οργανισμού πρέπει να χρησιμοποιηθούν.
- Περιστασιακά, οι βιοχημικές αντιδράσεις στην ταινία API Coryne δεν είναι επαρκείς για να διαχωρίσουν οριστικά δύο είδη και πρέπει να διεξάγονται συμπληρωματικές εξετάσεις, οπότε και θα εμφανιστεί μια σημείωση. Οι περιγραφές των εξετάσεων και οι αναφορές αρθρογραφιών υποδεικνύονται στον Κατάλογο Αναλυτικών Προφίλ και στο Τεχνικό Φυλλάδιο "Βιοχημικές πληροφορίες για λογισμικό ταυτοποίησης".
- Εάν ένας οργανισμός ταυτοποιηθεί ως *C. diphtheriae*, πρέπει να διεξαχθεί εξέταση παραγωγής τοξινών για να προσδιοριστεί εάν το στέλεχος είναι παθογόνο.
- Η θολερότητα του βακτηριδιακού εναιωρήματος θα πρέπει να είναι ίση ή μεγαλύτερη από **6 McFarland**. Εάν χρησιμοποιείται ένα εναιώρημα με θολερότητα μικρότερη από **6 McFarland**, η απόδοση της ταινίας API Coryne τίθεται υπό αμφισβήτηση. Τα εναιωρήματα πυκνότητας μεγαλύτερης από **6 McFarland** θα ενισχύσουν την απόδοση των εξετάσεων.

ΕΥΡΟΣ ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

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

ΑΠΟΔΟΣΗ

Εξετάστηκαν 1880 στελέχη συλλογής και στελέχη διαφόρων προελεύσεων που ανήκουν σε είδη που συμπεριλαμβάνονται στη βάση δεδομένων:

- 97,71 % των στελεχών ταυτοποιήθηκαν σωστά (με ή χωρίς συμπληρωματικές εξετάσεις).
- 1,28 % των στελεχών δεν ταυτοποιήθηκαν.
- 1,01 % των στελεχών ταυτοποιήθηκαν λανθασμένα.

ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

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

Απορρίψτε όλα τα χρησιμοποιημένα ή μη χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια (άλλα από τις φύσιγγες του API Suspension Medium και McFarland) 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 τον 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/κμπ.)	ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ/ΕΝΖΥΜΑ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
				ΑΡΝΗΤΙΚΟ	ΘΕΤΙΚΟ
NIT	νιτρικό κάλιο	0,136	αναγωγή Νιτρικών	NIT 1 + NIT 2 / 10 λεπτά άχρωμο πολύ απαλό ρόδινο / σκούρο ρόδινο ερυθρό	
PYZ	πιραζινοκαρβοξαμίδιο	0,56	Πυραζιναμιδάση	PYZ / 10 λεπτά άχρωμο πολύ απαλό καφέ πολύ απαλό πορτοκαλί / καφέ πορτοκαλί	
PYRA	πιρογλουταμινικό οξύ-β-ναφθυλαμίδιο	0,0256	Πυρρολιδονυλ Αρυλαμιδάση	ZYM A + ZYM B (PYrA → βNAG) / 10 λεπτά άχρωμο απαλό πορτοκαλί / πορτοκαλί	
PAL	2-ναφθυλ-φωσφορικό	0,0244	Αλκαλική Φωσφατάση	άχρωμο μπεζ - απαλό πορφυρό απαλό πορτοκαλί / πορφυρό	
βGUR	Ναφθόλη ASBI-γλυκουρονικό οξύ	0,0548	β-Γλυκουρονιδάση	άχρωμο απαλό γκριζο απαλό μπεζ / κυανό	
βGAL	2-ναφθυλ-βD-γαλακτοπιρανοζίτης	0,0312	β-Γαλακτοσιδάση	άχρωμο μπεζ - απαλό πορφυρό / πορφυρό	
αGLU	2-ναφθυλ-αD-γλυκοπιρανοζίτης	0,0308	α-Γλυκοσιδάση	άχρωμο μπεζ - απαλό πορφυρό απαλό πράσινο / πορφυρό	
βNAG	1-ναφθυλ-N-ακετυλο-βD-γλυκοζαμινίδιο	0,0348	N-Ακετυλο-β-Γλυκοζαμινιδάση	άχρωμο μπεζ - απαλό πορφυρό απαλό καφέ απαλό γκριζο / καφέ	
ESC	εσκουλίνη κιτρικό άλας σιδήρου	0,546 0,078	β-γλυκοσιδάση (Εσκουλίνη)	άχρωμο γκριζο / μαύρο	
URE	ουρία	0,76	Ουρεάση	κίτρινο πορτοκαλί / ερυθρό ρόδινο	
[GEL]	ζελατίνη (βόειος προέλευση)	0,6	Υδρόλυση (Ζελατίνη)	χωρίς διάχυση μαύρης χρωστικής / διάχυση μαύρης χρωστικής	
0	Αρνητικός έλεγχος	-	Ζύμωση	ερυθρό πορτοκαλί / κίτρινο κίτρινο - πορτοκαλί	
GLU	D-γλυκόζη	1,56	Ζύμωση (Γλυκόζη)		
RIB	D-ριβόζη	1,4	Ζύμωση (Ριβόζη)		
XYL	D-ξυλόζη	1,4	Ζύμωση (Ξυλόζη)		
MAN	D-μαννιτόλη	1,36	Ζύμωση (Μαννιτόλη)		
MAL	D-μαλτόζη	1,4	Ζύμωση (Μαλτόζη)		
LAC	D-λακτόζη	1,4	Ζύμωση (Λακτόζη)		
SAC	D-σακχαρόζη (σοκρόζη)	1,32	Ζύμωση (Σακχαρόζη)		
GLYG	γλυκογόνο	1,28	Ζύμωση (Γλυκογόνο)		
CAT	(εξέταση ESC ή [GEL])	-	Κατάλυση	H ₂ O ₂ (3 %) / 1 λεπτό χωρίς φυσαλίδες / φυσαλίδες	

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

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ
ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ
ΑΝΑΦΟΡΕΣ ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΙΩΝ
ΠΙΝΑΚΑΣ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

σελ. I
σελ. II
σελ. III
σελ. IV

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

Το 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 673 620 399
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
Εκτυπώθηκε στη Γαλλία



Identifieringssystem för coryneforma bakterier

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

API Coryne är ett standardiserat system för identifieringen av coryneforma bakterier på 24 timmar, vilket använder miniatyrtester och en speciellt anpassad databas. En fullständig lista över de organismer som är möjligt att identifiera med hjälp av detta system återfinns i Identifieringstabellen i slutet av denna bipacksedel.

METOD

API Coryne strips består av 20 mikrobrunnar innehållande dehydrerade substrat för att påvisa enzymatisk aktivitet eller jäsning av socker.

De enzymatiska testerna inokuleras med en koncentrerad suspension av organismer, som löser upp de enzymatiska substraten. Under inkubationen frambringas metabolismen färgförändringar som antingen uppträder spontant eller framkallas genom att reagenser tillsätts.

Jäsningstesterna inokuleras med ett berikat medium (innehållande en pH-indikator) som rekonstituerar sockersubstraten. Jäsning av socker resulterar i en surgörning, vilket detekteras med en spontan färgförändring hos pH-indikatorn.

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

KITETS INNEHÅLL (Kit för 12 tester)

- 12 API Coryne strips
- 12 ampuller med API GP medium
- 12 ampuller med API Suspension Medium, 3 ml
- 1 ampull McFarland, nr. 6
- 12 rapportblad
- 12 inkubationsboxar
- 1 bipacksedel

INNEHÅLLSDEKLARATION

Stripet

API CORYNE-stripsets innehåll framgår av Avläsningstabellen i denna bipacksedel.

Media

API GP Medium 2 ml	L-cystin Trypton (av nöt/svin) Natriumklorid Natriumsulfit Fenolrött Avmineraliserat vatten pH : 7,4 – 7,8	0,5 g 20 g 5 g 0,5 g 0,17 g upp till 1000 ml
API Suspension Medium 3 ml	Avmineraliserat vatten	
McFarland Standard 6	BaSO ₄	2,88 · 10 ⁻⁴ mol/l

De angivna mängderna kan justeras beroende på titern hos använda råmaterial.

REAGENSER OCH NÖDVÄNDIGT MATERIAL (SOM INTE MEDFÖLJER)

Reagenser

- Reagenser: NIT 1 + NIT 2 (Art.nr 70 442)
 - ZYM A (Art.nr 70 494)
 - ZYM B (Art.nr 70 493)
 - PYZ (Art.nr 70 492)
- Mineralolja (Art.nr 70 100)
- Väteperoxid (3%)
- DENSIMAT (Art.nr 99 234)
- API Coryne Analytical Profile Index (Art.nr 20 990) eller **apiweb™** programvara för identifiering (Art.nr 40 011) (kontakta bioMérieux)
- Columbia blodagar med CNA (Art.nr 43 071) eller utan CNA (Art.nr 43 041) eller TrypCase Soja + blod (Art.nr. 43 001)

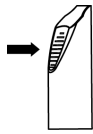
Material

- Pipetter eller PSipettes
- Ampullställ
- Ampullskydd
- Bomullstoppar
- 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. Det rekommenderas 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 ska anses infektiösa och behandlas på ett lämpligt sätt. Sterilteknik och sedvanliga försiktighetsåtgärder för att hantera den speciella gruppen av bakterier ska iaktas under hela proceduren. Se "CLSI M29-A, *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Aktuell revidering*". För ytterligare information angående försiktighetsåtgärder vid hantering, se "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories – Senaste upplagan", eller de f.n. gällande bestämmelserna 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.
- Då en ny ampull med ZYM B reagens öppnas rekommenderas att ett test för kvalitetskontroll utförs.

- 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, angivet på förpackningen. Ampuller med API Suspension Medium kan förvaras vid 2-30°C fram till sista förbrukningsdatum, angivet på förpackningen.

PROVER (INSAMLING OCH PREPARERING)

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

Mikroorganismerna som ska identifieras måste först isoleras på ett lämpligt medium i enlighet med standardiserade mikrobiologiska tekniker.

BRUKSANVISNING

Val av kolonier

När stammen som ska identifieras blivit isolerad och verifierad som medlem i gruppen grampositiva, icke-sporbildande, fakultativt aero-anaeroba stavar:

- Observera typen av hemolys.
- Plocka en välisolerad koloni och suspendera den i 0,3 ml sterilt vatten.
- Flöda en agarplatta (Trypcase Soja + 5% fårblod eller Columbia agar + 5% fårblod med eller utan CNA) med denna lösning (eller gör ett sterilt utstryk över hela agarytan).
- Inkubera plattan under 24-48 timmar vid 37°C.

Preparering av stripset

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

Beredning av inokulatet

- Öppna en ampull med API Suspension Medium som angivet i avsnittet "Försiktighetsåtgärder".
- Använd en bomullstopp för att skörda hela kulturen från den tidigare preparerade subkulturplattan. Det rekommenderas att använda unga kulturer (24-48 timmar gamla).
- Bered en koncentrerad lösning med turbiditet högre än **6 McFarland**. Suspensionen måste användas direkt efter beredning.

Inokulering av stripset

- För de första elva testerna på stripset (testerna NIT till GEL), fördela den erhållna suspensionen genom att undvika bubbelbildning (luta stripset lite framåt och placera spetsen på pipetten eller PSIpipetten mot sidan av kupolen):
 - För testerna NIT till ESC: tillsätt ca 100-150 µl till varje kupol.
 - För URE-testet: fyll endast brunnen.
 - För GEL-testet: fyll både brunnen och kupolen.
- För de sista nio testerna på stripset (testerna U till GLYG):
 - Öppna en ampull API GP Medium som anvisat i stycket "Försiktighetsåtgärder" och överför resten av lösningen till ampullen (ca 0,5 ml). Blanda väl.
 - Den nya suspensionen fördelas endast till brunnarna.
- Fyll kupolerna till de understrukna testerna (URE, och U till GLYG) med mineralolja så att det bildas en konvex yta.
- Placera locket på plattan.
- Inkubera under 24 timmar (± 2 timmar) vid 36°C ± 2°C **under aeroba förhållanden**.

AVLÄSNING OCH TOLKNING

Avläsning av stripset

Efter inkubationen:

- Tillsätt reagenserna:
 - NIT-testet: 1 droppe från både NIT 1 och NIT 2
 - PYZ-testet: 1 droppe PYZ
 - PyrA-, PAL-, βGUR-, βGAL-, βGLU- och βNAG-tester: 1 droppe från både ZYM A och ZYM B (*).
- (*) **Det rekommenderas** att varje ampull med ZYM B **kontrolleras** innan den används för första gången. För att göra denna kontroll, i avsikt att eliminera eventuellt defekt reagens, är **stammen ATCC® 27402** att föredra enligt avsnittet Kvalitetskontroll.
- Vänta 10 minuter och avläs sedan reaktionerna enligt avläsningstabellen. Om det är nödvändigt, utsätt stripset för starkt ljus (1000 W) i 10 sekunder för att avfärga reagensöverskott i brunnarna PyrA till βNAG.
- Utför KATAlas-testet (utgör det 21:a testet): tillsätt 1 droppe väteperoxid (3%) till ESC- eller GEL-testet. Vänta 1 minut. Framträdandet av **bubblor** motsvarar en **positiv** reaktion.
- Anteckna alla reaktioner på rapportbladet.

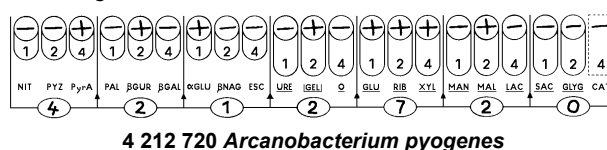
Tolkning

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 inom varje grupp, erhålls ett 7-siffrigt tal. Katalasreaktionen utgör det 21:a testet och har värdet 4 om det är positivt.

- Identifiering:
Denna utförs med hjälp av databasen (V3.0)
* med Analytical Profile Index:
- Leta upp den numeriska profilen i listan över profiler.

- * med **apiweb™** identifieringsprogrammet:
- Skriv in den 7-siffriga numeriska profilen manuellt via tangentbordet.



KVALITETSKONTROLL

Mediet, strips och reagenser genomgår systematisk kvalitetskontroll vid olika steg i tillverkningen.

Rationaliserad kvalitetskontroll (**Streamlined quality control**) kan tillämpas för att bekräfta att API Coryne-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.

Testning kan utföras med hjälp av ***Corynebacterium renale* ATCC® 19412** för att utvärdera prestandan hos XYL-testet. Tester utförda av bioMérieux har visat att XYL-testet är det mest labila på API Coryne-stripset. När stripset skall testas kan *Corynebacterium renale* ATCC 19412 användas för att detektera degradering.

För de användare som behöver utföra **omfattande tester för kvalitetskontroll** av stripset bör följande tre stammar testas för att påvisa positiv och negativ reaktivitet för de flesta av API Coryne-testerna.

- | | | | |
|--|------------|--------------------------------------|------------|
| 1. <i>Corynebacterium renale</i> | ATCC 19412 | 3. <i>Microbacterium testaceum</i> * | ATCC 15829 |
| 2. <i>Cellulosimicrobium cellulans</i> | ATCC 27402 | | |

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

	NIT	PYZ	PyrA	PAL	βGUR	βGAL	αGLU	βNAG	ESC	URE	LGEL	0	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT
1.	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
2.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	V	-	+	+	+	-	+	-	+	V	+
3.	-	+	-	V	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

* Inte inkluderat i databasen.

- Profiler som erhållits efter odling på Columbia agar + 5% färbod (Art.nr 43 041).
- Inokulatet är anpassat till mellan 6 och 7 McF med hjälp av DENSIMAT.

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

METODENS BEGRÄNSNINGAR

- API Corynesystemet är endast avsett för identifiering av coryneforma bakterier (släktet *Corynebacterium* och andra liknande släkten) 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. Databasen för denna produkt är begränsad till de coryneforma bakterier som vanligen isoleras från kliniska prover.
- Endast rena kulturer från en enda organism bör användas.
- Ibland kan de biokemiska reaktionerna på API Coryne-stripset vara otillräckliga för att definitivt separera två arter, varför kompletterande tester måste utföras. I detta fall kommer en notering att visas. Testbeskrivningarna och referenslitteraturen är angivna i Analytical Profile Index och i den tekniska broschyren "Biochemical information for identification software".
- Om en organism är identifierad som *C. diphtheriae*, måste toxogenicitetstest utföras för att bestämma om isolatet är patogent.
- Bakteriesuspensionens turbiditet bör vara lika med eller större än **6 McFarland**. Om en suspension används med en turbiditet lägre än **6 McFarland**, kommer prestandan för API Coryne-stripset att äventyras. Lösningar med högre koncentration än **6 McFarland** kommer att förbättra testprestandan.

FÖRVÄNTADE RESULTAT

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

PRESTANDA

1880 kommersiellt tillgängliga stammar och stammar av olika ursprung, tillhörande arter upptagna i databasen, testades:

- 97,71% av stammarna identifierades korrekt (med eller utan kompletterande tester).
- 1,28% av stammarna identifierades inte.
- 1,01% av stammarna blev felidentifierade.

AVFALLSHANTERING

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

Avfallshantering av använda eller oanvända reagenser (förutom API Suspension Medium- och McFarland-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

TEST	AKTIVA INGREDIENSER	MGD (mg/kup.)	REAKTIONER/ENZYMER	RESULTAT	
				NEGATIVT	POSITIVT
NIT	kaliumnitrat	0,136	NITratreduktion	NIT 1 + NIT 2/10 min färglös mycket svagt rosa	
PYZ	pyrazinkarboxamid	0,56	PYraZinamidas	PYZ / 10 min färglös mycket svagt brun mycket svagt orange	
PYRA	pyroglutaminsyra- β-naftylamid	0,0256	PYRrolidonylArylamidas	ZYM A + ZYM B (PyrA → βNAG) / 10 min färglös svagt orange	
PAL	2-naftylfosfat	0,0244	ALKaliskt fosfatas	färglös beige - svagt lila svagt orange	
βGUR	Naftol ASBI-glukuronsyra	0,0548	β-GlukURonidas	färglös svagt grå svagt beige	
βGAL	2-naftyl-βD- galaktopyranosid	0,0312	β-GALaktosidas	färglös beige - svagt lila	
αGLU	2-naftyl-αD-glukopyranosid	0,0308	α-GLUkosidas	färglös beige - svagt lila svagt grön	
βNAG	1-naftyl-N-acetyl- βD-glukosaminid	0,0348	N-Acetyl-Glukosaminidas	färglös beige - ljuslila svagt brun svagt grå	
ESC	esculin järncitrat	0,546 0,078	β-glukosidas (ESCulin)	färglös grå	
URE	urinämne	0,76	UREas	gul orange	
[GEL]	gelatin (av nöt)	0,6	Hydrolys (GELatin)	ingen diffusion av svart pigment	
0	Negativ kontroll	-	Jäsning		
GLU	D-glukos	1,56	Jäsning (GLUkos)		
RIB	D-ribos	1,4	Jäsning (RIBos)		
XYL	D-xylos	1,4	Jäsning (XYLos)		
MAN	D-mannitol	1,36	Jäsning (MANnitol)		
MAL	D-maltos	1,4	Jäsning (MALTos)		
LAC	D-laktos (av nöt)	1,4	Jäsning (LAKtos)		
SAC	D-sackaros (sukros)	1,32	Jäsning (SACKaros)		
GLYG	glykogen	1,28	Jäsning (GLYkoGen)		
CAT	(ESC- eller [GEL]- testet)	-	KATalas	H ₂ O ₂ (3 %) / 1 min Inga bubblor	

- De angivna mängderna kan justeras beroende på titern hos använda råmaterial.
- 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 and **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 övriga namn eller varumärken tillhör dess 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 coryneforme bakterier

RESUMÉ OG FORKLARING

API Coryne er et standardiseret system til identifikation af coryneformede bakterier på 24 timer, som anvender minimerede tests og en specielt tilpasset database. Den komplette liste over de organismer, som det er muligt at identificere med dette system, er angivet i Identifikationstabellen nederst på denne indlægsseddel.

PRINCIP

API 20 Coryne strip'en består af 20 mikrorør, der indeholder dehydrerede substrater til påvisning af enzymatisk aktivitet eller fermentation af kulhydrater.

De enzymatiske tests inokuleres med en tæt suspension af organismer, som rekonstruerer de enzymatiske substrater. Under inkubationen danner metabolismen farveforandringer, der enten er spontane eller afsløres ved tilsætning af reagenser.

Fermentationstests inokuleres med et beriget medium (indeholdende en pH-indikator), som rekonstruerer sukkersubstraterne. Fermentation af kulhydrater medfører acidifikation, hvilket detekteres ved en spontan farveændring i pH-indikatoren.

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

KITTETS INDHOLD (kit til 12 tests)

- 12 API Coryne strips
- 12 ampuller med API GP Medium
- 12 ampuller med API Suspension Medium, 3 ml
- 1 McFarland ampul, spids 6
- 12 resultatark
- 12 inkubationsæsker
- 1 indlægsseddel

SAMMENSÆTNING

Strip

Sammensætningen af API Coryne strip'en er angivet i Aflæsningstabellen på denne indlægsseddel.

Medier

API GP Medium 2 ml	L-cystin Trypton (okse-/svine-oprindelse) Natriumklorid Natriumsulfit Fenolrødt Demineraliseret vand t. tilber. af 1000 ml pH : 7.4 - 7.8	0,5 g 20 g 5 g 0,5 g 0,17 g
API Suspension Medium 3 ml	Demineraliseret vand	
McFarland Standard 6	BaSO ₄	2.88 10 ⁻⁴ mol/l

De angivne mængder kan justeres, afhængigt af titeren for de anvendte råmaterialer.

NØDVENDIGE MEN IKKE MEDFØLGENDE REAGENSER OG MATERIALER

Reagenser

- Reagenser: NIT 1 + NIT 2 (Ref. 70 442)
ZYM A (Ref. 70 494)
ZYM B (Ref. 70 493)
PYZ (Ref. 70 492)
- En mineralisk olie (Ref. 70 100)
- Hydrogenperoxid (3 %)
- DENSIMAT (Ref. 99 234)
- API Coryne Analytisk Profiindeks (Ref. 20 990) eller **apiweb™** identifikationssoftware (Ref. 40 011) (spørg bioMérieux)
- Columbia blodagar med CNA (Ref. 43 071) eller uden CNA (Ref. 43 041) eller Trypcasesoja + blod (Ref. 43 001)

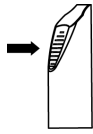
Materiale

- Pipetter eller PSIpetter
- Ampul-stativ
- Ampulbeskytter
- Vatpinde
- Almindeligt laboratorieustyr til mikrobiologi

ADVARSLER OG FORSİGTIGHEDSREGLER

- **Kun til *in vitro* diagnostisk anvendelse 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 forholdregler for håndtering af den undersøgte bakteriekultur gennem hele denne procedure. Se venligst "CLSI M29-A, *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, ...
- Det anbefales at udføre en kvalitetskontroltest, når en ny ampul ZYM B åbnes.

- 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, koloniens og mikroskopiens morfologi for stammen samt om nødvendigt resultaterne af eventuelle andre udførte prøver, specielt de antibakterielle følsomhedsmønstre.



OPBEVARINGSBETINGELSER

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

Ampullerne med API Suspension Medium kan opbevares ved 2-30°C indtil den udløbsdato, der er angivet på emballagen.

PRØVER (INDSAMLING OG PRÆPARERING)

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

De mikroorganismer, der skal identificeres, skal først isoleres på et egnet dyrkningsmedium i overensstemmelse med standard mikrobiologiske teknikker.

BRUGSANVISNING

Udvælgelse af kolonierne

Når den stamme, der skal identificeres, er blevet isoleret og verificeret som et medlem af gruppen af Gram-positive, ikke-sporedannende fakultativt aero-anoerobe stave:

- Bemærk typen af hæmolyse.
- Udtag en velisoleret koloni og suspendér den i 0,3 ml sterilt vand.
- Overhæld en agarplade (Trypcasesojaagar + 5% fåreblod eller Columbiaagar + 5% fåreblod med eller uden CNA) med denne suspension (eller udstryk aseptisk på hele agarens overflade).
- Inkubér pladen ved 37°C i 24 - 48 timer.

Præparering af strip'en

- Præparer en inkubationsæske (skål 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 bakkens gennembullede brønde for at skabe en fugtig atmosfære.
- Notér stammereferencen på bakkens forlængede klap. (Notér ikke referencen 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 Suspension Medium som angivet i afsnittet "Advarsler og forholdsregler".
- Benyt en vatpind til at udtage hele kulturen fra den forpræparerede subkulturplade. Det anbefales at anvende unge kulturer (24-48 timer gamle).
- Præparer en tæt opløsning med en turbiditet på mere end **6 McFarland**. Denne suspension skal anvendes umiddelbart efter præpareringen.

Inokulation af strip'en

- I de første elleve tests af strip'en (test NIT til GEL) fordeles den opnåede suspension - undgå, at der dannes bobler (vip strip'en let fremad og anbring spidsen af pipetten eller PSIpipetten mod siden af brønden):
 - For tests NIT til ESC: fordel cirka 100-150 µl i hver brønd.
 - For URE testen : fyld kun røret.
 - For GEL testen : fyld både røret og brønden.
- I de sidste ni tests på strip'en (tests Q til GLYG):
 - Åbn en ampul med API GP Medium som angivet i afsnittet "Advarsler og forholdsregler" og overfør resten af suspensionen til den (ca. 0,5 ml). Bland omhyggeligt.
 - Fordel denne nye suspension udelukkende i rørene.
- Fyld brønden i de understregte tests (URE og Q til GLYG) med mineralisk olie for at danne en konveks menisk.
- Sæt låget på skålen.
- Inkubér i 24 timer (± 2 timer) ved 36°C ± 2°C under **aerobe betingelser**.

AFLÆSNING OG FORTOLKNING

Aflæsning af strip

Efter inkubationsperioden:

- Tilsæt reagenserne:
 - NIT test : 1 dråbe NIT 1 og 1 dråbe NIT 2
 - PYZ test : 1 dråbe PYZ
 - PyrA, PAL, βGUR, βGAL, αGLU, βNAG tests : 1 dråbe af hvert af reagenserne ZYM A og ZYM B (*).
- (*) **Det anbefales at kontrollere** hver ampul ZYM B, inden den bruges første gang. Til dette formål anbefales det at anvende **stamme ATCC® 27402** som nævnt i afsnittet om Kvalitetskontrol for at eliminere defekte reagenser.
- Vent 10 minutter og aflæs derefter alle reaktionerne i henhold til Aflæsningstabellen. Udsæt om nødvendigt strip'en for kraftigt lys (1000 W) i 10 sekunder for at afværge eventuelle overskydende reagenser i rørene PyrA til βNAG.
- Udfør CATalase test (anvendes som 21. test) : Tilsæt 1 dråbe brintoverilte (3%) til ESC eller GEL testen. Vent 1 minut. Forekomst af **bobler** svarer til en **positiv** reaktion.
- Notér alle reaktioner på resultatarket.

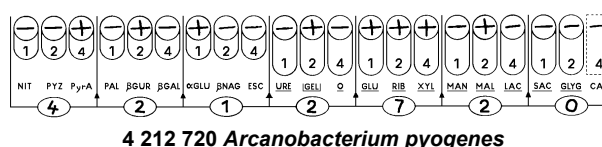
Fortolkning

Identifikation opnås med den **numeriske profil**.

- Bestemmelse af den numeriske profil : På resultatarket er testene opdelt i grupper på 3, og en værdi på 1,2 eller 4, er angivet for hver. Ved at addere værdierne svarende til positive reaktioner inden for den enkelte gruppe opnås der en 7-cifret profilnummer, der udgør den numeriske profil. Katalasereaktionen udgør den 21. test og har en værdi på 4, hvis den er positiv.

- Identifikation :
Denne udføres ved hjælp af databasen (V3.0)
- * 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.



KVALITETSKONTROL

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

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

Testning kan foretages med anvendelse af **Corynebacterium renale ATCC® 19412** for at vurdere præstationen af XYL testen. Tests udført af bioMérieux har vist, at XYL testen er den mest ustabile i API Coryne. Når strip'en testes, kan **Corynebacterium renale ATCC 19412** anvendes til detektion af nedbrydning.

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 Coryne tests.

- | | | | |
|--|------------|--------------------------------------|------------|
| 1. <i>Corynebacterium renale</i> | ATCC 19412 | 3. <i>Microbacterium testaceum</i> * | ATCC 15829 |
| 2. <i>Cellulosimicrobium cellulans</i> | ATCC 27402 | | |

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

	NIT	PYZ	PyrA	PAL	βGUR	βGAL	αGLU	βNAG	ESC	URE	LGEL	0	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT
1.	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
2.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	V	-	+	+	+	-	+	-	+	V	+
3.	-	+	-	V	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

* Ikke medtaget i databasen.

- Profilerne er opnået efter dyrkning på Columbia agar + 5% fåreblood (Ref. 43 041).
- Inokulum justeret til mellem 6 og 7 McF med DENSIMAT.

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

METODENS BEGRÆNSNINGER

- API Coryne-systemet er udelukkende beregnet til identifikation af coryneformede bakterier (genus *Corynebacterium* og relaterede genera), der er medtaget i databasen (se Identifikationstabel nederst på denne indlægsseddel). Det kan ikke benyttes til at identificere nogen andre mikroorganismer eller til at udelukke, at de er til stede. Databasen for dette produkt er begrænset til de coryneformede bakterier, der hyppigst isoleres fra kliniske prøver.
- Der bør kun anvendes rene kulturer af en enkelt organisme.
- Somme tider er de biokemiske reaktioner på API Coryne strip'en ikke tilstrækkeligt til med sikkerhed at adskille to species, og der må udføres supplerende tests – i sådanne tilfælde vil der blive vist en note. Testbeskrivelserne og litteraturhenvisningerne er angivet i det analytiske profilindeks og i den tekniske brochure "Biokemiske informationer for identifikationssoftware".
- Hvis en organisme identificeres som *C. diphtheriae*, skal der udføres toxogen testning for at bestemme, om det isolerede er patogen.
- Turbiditeten i bakterisuspensionen skal være større end eller lig med **6 McFarland**. Hvis der anvendes en suspension med turbiditet på mindre end **6 McFarland**, vil API Coryne-strip'ens præstation være forringet. Suspensioner med større densitet end **6 McFarland** vil forbedre testpræstationen.

FORVENTEDE RESULTATER

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

PRÆSTATIONER

1880 kollektionsstammer og stammer af forskellig oprindelse, som hører til species, der er inkluderet i databasen, blev testet:

- 97,71 % af stammerne blev korrekt identificeret (med eller uden supplerende tests).
- 1,28 % af stammerne blev ikke identificeret.
- 1,01 % af stammerne blev fejldificeret.

BORTSKAFFELSE AF AFFALD

Ubrugte ampuller af API Suspension Medium og McFarland, kan behandles som ikke farligt affald og bortskaffes som sådant.

Bortskaffelse af alle brugte eller ubrugte reagenser (udover McFarland ampuller og ampuller med API Suspension Medium), samt eventuelle andre kontaminerede engangsmaterialer, skal ske efter procedurer for smittefarlige eller potentielt smittefarlige 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	
				NEGATIVE	POSITIVE
NIT	kaliumnitrat	0.136	reduktion af NITrater	NIT 1 + NIT 2 / 10 min farveløs meget svag lyserød	
PYZ	pyrazincarboxamid	0.56	PYraZinamidase	PYZ / 10 min farveløs meget lys brun meget lys orange	
PYRA	pyroglutaminsyre- β-naftylamid	0.0256	PYRolidonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B (PyrA → βNAG) / 10 min farveløs lys orange	
PAL	2-naftyl-fosfat	0.0244	ALKalisk fosfatase	farveløs beige - lys purpur lys orange	purpur
βGUR	Naftol ASBI-glucuronsyre	0.0548	β-GlucURonidase	farveløs lysegrå lys beige	blå
βGAL	2-naftyl-βD-galaktopyranosid	0.0312	β-GALaktosidase	farveløs beige - lys purpur	purpur
αGLU	2-naftyl-αD-glucopyranosid	0.0308	α-GLUcosidase	farveløs beige - lys purpur lysegrøn	purpur
βNAG	1-naftyl-N-acetyl- βD-glucosaminid	0.0348	N-Acetyl-β-Glukosaminidase	farveløs beige - lys purpur lysebrun lysegrå	brun
ESC	esculin ferricitrat	0.546 0.078	β-glukosidase (ESCulin)	farveløs grå	sort
URE	urea	0.76	UREase	gul orange	rød lyserød
[GEL]	gelatine (okse-oprindelse)	0.6	Hydrolyse (GELatine)	ingen diffusion af sort pigment	diffusion af sort pigment
0	Negativ kontrol	-	Fermentation		
GLU	D-glukose	1.56	Fermentation (GLUkose)		
RIB	D-ribose	1.4	Fermentation (RIBose)		
XYL	D-xylose	1.4	Fermentation (XYLose)		
MAN	D-mannitol	1.36	Fermentation (MANnitol)	rød orange	gul gul-orange
MAL	D-maltose	1.4	Fermentation (MALtose)		
LAC	D-laktose (okse-oprindelse)	1.4	Fermentation (LACtose)		
SAC	D-sakkarose (sukrose)	1.32	Fermentation (SACcharose)		
GLYG	glykogen	1.28	Fermentation (GLYcoGen)		
CAT	(ESC eller [GEL] test)	-	CATalase	H ₂ O ₂ (3 %) / 1 min ingen bobler	

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

PROCEDURE	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 dennes 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 bakterii z grupy coryneform

WPROWADZENIE

System API Coryne jest wystandaryzowanym zestawem do identyfikacji bakterii z grupy coryneform w czasie 24 godzin, który wykorzystuje zminiaturyzowane testy i specjalnie przystosowaną bazę danych. Pełna lista organizmów, które można zidentyfikować przy użyciu tego systemu jest podana na końcu niniejszej instrukcji w Tabeli Identyfikacyjnej.

ZASADA DZIAŁANIA

Pasek API Coryne składa się z 20 mikroprobówek zawierających odwodnione substraty dla wykazania aktywności enzymatycznej lub fermentacji węglowodanów.

Testy enzymatyczne napełnia się gęstą zawiesiną bakteryjną, która otwiera enzymatyczne substraty. Procesy metaboliczne zachodzące podczas inkubacji powodują zmiany koloru, które są albo spontaniczne, lub wywołane przez dodanie odczynników.

Testy fermentacyjne napełnia się podłożem wzbogaconym (zawierającym wskaźnik pH), które otwiera substraty cukrowe. Wynikiem fermentacji węglowodanów jest zakwaszenie, które powoduje zmianę koloru wskaźnika pH.

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

ZAWARTOŚĆ ZESTAWU (Zestaw na 12 testów)

- 12 pasków API Coryne
- 12 ampulek API GP Medium
- 12 ampulek API Suspension Medium, 3 ml
- 1 ampulka skali McFarland'a, punkt 6
- 12 kart wyników
- 12 komór inkubacyjnych
- 1 instrukcja

SKŁAD

Pasek

Skład paska API Coryne podano w tej instrukcji w Tabeli Odczytów.

Podłoża

API GP Medium 2 ml	L-cystyna Trypton (wołowy/wieprzowy) Chlorek sodu Siarczyn sodu Czerwień fenolowa Woda demineralizowana pH : 7.4 - 7.8	0.5 g 20 g 5 g 0.5 g 0.17 g do 1000 ml
API Suspension Medium 3 ml	Woda demineralizowana	
Standard McFarland'a 6	BaSO ₄	2.88 · 10 ⁻⁴ mol/l

Wskazane stężenia mogą być regulowane w zależności od miana użytego surowca.

WYPOSAŻENIE WYMAGANE NIE NALEŻĄCE DO ZESTAWU

Odczynniki

- Odczynniki: NIT 1 + NIT 2 (Ref. 70 442)
ZYM A (Ref. 70 494)
ZYM B (Ref. 70 493)
PYZ (Ref. 70 492)
- Olej mineralny (Ref. 70 100)
- Nadtlenek wodoru (3 %)
- DENSIMAT (Ref. 99 234)
- Książka Kodów API Coryne (Ref. 20 990) lub oprogramowanie komputerowe do identyfikacji **apiweb™** (Ref. 40 011) (skontaktuj się z bioMérieux)
- Agar Columbia z krwią i CNA (Ref. 43 071) lub bez CNA (Ref. 43 041) lub
Agar tryptozowo-sojowy z krwią (Ref. 43 001)

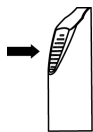
Materiały

- Pipety lub PSlpety
- Osłona na ampułkę
- Statyw do ampułek
- Wymazówki
- 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. Świadczenie 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 zwykle procedury obowiązujące przy pracy ze szczepami bakteryjnymi zgodnie z "CLSI M29-A, *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, ...
- Po otwarciu nowej ampułki odczynnika ZYM B należy przeprowadzić kontrolę jakości.

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

Ampułki API Suspension Medium mogą być przechowywane w 2-30°C do końca daty ważności podanej na opakowaniu.

MATERIAŁ DO BADAŃ (POBIERANIE I OPRACOWANIE)

Paski API Coryne nie są przeznaczone do bezpośrednich badań materiału klinicznego lub innych próbek. Identyfikowany mikroorganizm musi być najpierw wyizolowany na podłożach hodowlanych zgodnie ze standardowymi technikami mikrobiologicznymi.

SPOSÓB WYKONANIA

Wybór kolonii bakteryjnych

Po wyizolowaniu mikroorganizmu, który ma być identyfikowany sprawdzić, czy należy on do grupy Gram-dodatnich, nie wytwarzających przetrwalników, względnie tlenowo-beztlenowych pałeczek:

- Zanotować typ hemolizy.
- Pobrać dobrze wyizolowaną kolonię i zawiesić w 0.3 ml jałowej wody.
- Zalać tą zawiesiną płytkę agarową (Agar tryptozowo-sojowy + 5% krwi baraniej lub agar Columbia + 5% krwi baraniej z lub bez CNA) (lub jałowo rozprowadzić wymazówką po całej powierzchni płytki).
- Inkubować płytkę przez 24 - 48 godziny w 37°C.

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 ampulkę API Suspension Medium (2 ml) zgodnie z paragrafem "Środki ostrożności".
- Używając wymazówkę zebrać wszystkie bakterie, które wyrosły na płytce z założoną hodowlą wtórną. Zaleca się używanie młodych hodowli (24-48 godzinnych).
- Przygotować gęstą zawiesinę o zmętnieniu przekraczającym **6 w skali McFarland'a**. Zawiesinę tę użyć natychmiast po sporządzeniu.

Napełnianie paska

- Jedenaście pierwszych testów na pasku (testy od NIT do GEL) napełnić otrzymaną zawiesiną unikając tworzenia pęcherzyków (nachylić lekko pasek do przodu i trzymać końcówkę pipety lub PSipety przy ścianie wgłębienia):
 - Dla testów od NIT do ESC : nanieść po około 100-150 µl do każdego testu.
 - Dla testu URE : napełnić tylko probówkę.
 - Dla testu GEL : napełnić zarówno probówkę jak i wgłębienie.
- Dziewięć końcowych testów na pasku (testy od Q do GLYG):
 - Otworzyć ampulkę API GP Medium zgodnie z paragrafem "Środki ostrożności" i przenieść do niej resztę zawiesiny (około 0.5 ml). Dobrze wymieszać.
 - Nanieść nową zawiesinę wyłącznie do probówek.
- Napełnić wgłębienia podkreślonych testów (URE, i od Q do GLYG) olejem mineralnym, aby utworzył się niewielki menisk wypukły.
- Zamknąć komorę inkubacyjną.
- Inkubować przez 24 godziny (± 2 godziny) w 36°C ± 2°C w warunkach **tlenowych**.

ODCZYT I INTERPRETACJA

Odczyt paska

Po inkubacji:

- Dodać odczynniki:
 - Test NIT: po 1 kropli NIT 1 i NIT 2
 - Test PYZ: 1 kropla PYZ
 - Testy PyrA, PAL, βGUR, βGAL, αGLU, βNAG: po 1 kropli ZYM A i ZYM B (*).
- (* **Zalecane jest przeprowadzenie kontroli** każdej ampułki ZYM B przed pierwszym użyciem. W celu eliminacji wadliwych odczynników należy użyć szczepu **ATCC® 27402** wskazanego w paragrafie Kontrola Jakości.
- Odczekać 10 minut, a następnie odczytać wszystkie reakcje według Tabeli Odczytów. Jeśli to konieczne, wystawić pasek na działanie silnego światła przez 10 sekund (pod lampą 1000 W), aby odbarwić nadmiar odczynników w testach od PyrA do βNAG.
- Wykonać test na katalazę (stanowi on 21. test) : dodać 1 kroplę nadtlenu wodoru (3 %) do testu ESC lub GEL. Odczekać 1 minutę. Pojawienie się **pęcherzyków** świadczy o reakcji **pozytywnej**.
- Zapisać wyniki wszystkich reakcji na karcie wyników.

Interpretacja

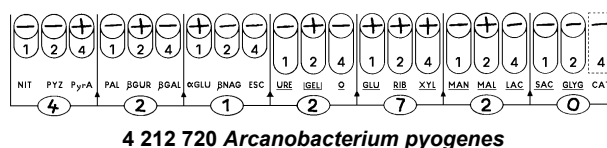
Identyfikację otrzymuje się z **profilu numerycznego**.

- Określanie 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 katalazy stanowi 21. test, a jej wartość wynosi 4, jeśli jest pozytywna.

- Identyfikacja:
Uzyskuje się ją używając bazy danych (V3.0)
* z Książki Kodowej:
- Odszukać właściwy profil numeryczny na liście profili.

- * z oprogramowania komputerowego **apiweb™** :
- Wprowadzić 7 cyfrowy profil numeryczny manualnie przy użyciu klawiatury.



KONTROLA JAKOŚCI

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

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

Do oceny testu XYL użyć można szczepu wzorcowego ***Corynebacterium renale* ATCC® 19412**. Badania prowadzone przez bioMérieux wykazały, że test XYL jest najmniej trwałe w zestawie API Coryne. Szczepu *Corynebacterium renale* ATCC 19412 można używać do wykrycia rozkładu.

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

- | | | | |
|--|------------|--------------------------------------|------------|
| 1. <i>Corynebacterium renale</i> | ATCC 19412 | 3. <i>Microbacterium testaceum</i> * | ATCC 15829 |
| 2. <i>Cellulosimicrobium cellulans</i> | ATCC 27402 | | |

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

	NIT	PYZ	PyrA	PAL	βGUR	βGAL	αGLU	βNAG	ESC	URE	LGEL	0	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLYG	CAT
1.	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+
2.	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	V	-	+	+	+	-	+	-	+	V	+
3.	-	+	-	V	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

* Nie zawarty w bazie danych.

- Profile otrzymane z hodowli szczepu na agarze Columbia z 5% krwią baranią (Ref. 43 041).
- Wyznaczone przy użyciu DENSIMATU inokulum między 6 a 7 McF.

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

OGRANICZENIA METODY

- Pasek API Coryne służy jedynie do identyfikacji bakterii z grupy coryneform (rodzaj *Corynebacterium* i rodzaje spokrewnione) zawartych w bazie danych (patrz Tabela Identyfikacyjna na końcu instrukcji). Nie może być używany do identyfikacji innych mikroorganizmów lub wykluczania ich obecności. Baza danych dla tego paska jest ograniczona do bakterii z grupy coryneform najczęściej izolowanych z materiałów klinicznych.
- Należy używać tylko czysto wyizolowanych bakterii.
- Czasami, reakcje biochemiczne na pasku API Coryne nie są wystarczające do rozróżnienia dwóch gatunków i należy przeprowadzić dodatkowe testy, w takich przypadkach pojawia się odpowiednia informacja. Opis testów i piśmiennictwo są dostępne w Książce Kodów i Broszurze Technicznej "Informacje biochemiczne do programu identyfikacyjnego".
- Jeśli otrzymana się identyfikację jako *C. diphtheriae* wytwarzające toksynę, należy określić patogenność danego izolatu.
- Zmętnienie zawiesiny bakteryjnej powinno być równe lub większe niż **6 w skali McFarland'a**. Jeśli gęstość użytej zawiesiny jest mniejsza niż **6 w skali McFarland'a**, wyniki uzyskane na pasku API Coryne mogą być błędne. Zawiesina o gęstości wyższej niż **6 w skali McFarland'a** wpływa korzystnie na wyniki.

ZAKRES SPODZIEWANYCH WYNIKÓW

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

OCENA TESTU

Przebadano 1880 szczepów, z kolekcji i różnych źródeł, należących do gatunków zawartych w bazie danych :

- 97.71 % szczepów prawidłowo zidentyfikowano (z lub bez testów uzupełniających).
- 1.28 % szczepów nie zidentyfikowano.
- 1.01 % zostało nieprawidłowo zidentyfikowanych.

POSTĘPOWANIE ZE ZUŻYTYMI TESTAMI

Niezużyte ampułki API Suspension Medium i McFarland'a nie stanowią zagrożenia i należy pozbywać się ich zgodnie z tym.

Wszystkich zużytych i niezużytych odczynników za wyjątkiem ampułek z API Suspension Medium i McFarland'a), 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 dezynfekowanie ich i usuwanie (zlecenie dezynfekcji i usuwania) zgodnie z zatwierdzonymi procedurami.

TABELA ODCZYTÓW

TEST	AKTYWNE SKŁADNIKI	STĘŻENIE (mg/probówka)	REAKCJE/ENZYMY	WYNIKI	
				NEGATYWNY	POZYTYWNY
NIT	azotan potasu	0.136	redukcja azotanów	NIT 1 + NIT 2 / 10 min bezbarwny bardzo blado różowy	
PYZ	pirazynokarboksyamid	0.56	pirazynoamidaza	PYZ / 10 min bezbarwny bardzo blado brązowy bardzo blado pomarańczowy	
PYRA	β-naftyamid kwasu piroglutaminowego	0.0256	arylamidaza piroolidonylu	ZYM A + ZYM B (PyrA → βNAG) / 10 min bezbarwny blado pomarańczowy	
PAL	2-naftylo-fosforan	0.0244	fosfataza alkaliczna	bezbarwny beżowo - blado purpurowy blado pomarańczowy	
βGUR	naftol ASBI kwasu glukuronowego	0.0548	β-glukuronidaza	bezbarwny blado szary blado beżowy	
βGAL	2-naftylo-βD-galaktopiranozyd	0.0312	β-galaktozydaza	bezbarwny beżowo - blado purpurowy	
αGLU	2-naftylo-αD-glukopiranozyd	0.0308	α-glukozydaza	bezbarwny beżowo - blado purpurowy blado zielony	
βNAG	1-naftylo-N-acetylo-βD-glukozaminid	0.0348	N-acetylo-β-glukozaminidaza	bezbarwny beżowo - blado purpurowy blado brązowy blado szary	
ESC	eskulina cytrynian żelaza	0.546 0.078	β-glukozydaza (eskulina)	bezbarwny szary	
URE	mocznik	0.76	ureaza	żółty pomarańczowy	
[GEL]	żelatyna (wołowa)	0.6	hydroliza (żelatyna)	brak dyfuzji czarnego pigmentu	
0	Kontrola negatywna	–	Fermentacja		
GLU	D-glukoza	1.56	Fermentacja (glukoza)		
RIB	D-ryboza	1.4	Fermentacja (ryboza)		
XYL	D-ksyloza	1.4	Fermentacja (ksyloza)		
MAN	D-mannitol	1.36	Fermentacja (mannitol)		
MAL	D-maltoza	1.4	Fermentacja (maltoza)		
LAC	D-laktoza (wołowa)	1.4	Fermentacja (laktoza)		
SAC	D-sacharoza	1.32	Fermentacja (sacharoza)		
GLYG	glikogen	1.28	Fermentacja (glikogen)		
CAT	(test ESC lub [GEL])	–	katalaza	H ₂ O ₂ (3 %) / 1 min brak pęcherzyków	

- Wskazane stężenia mogą być regulowane w zależności od miana użytego surowca.
- 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.

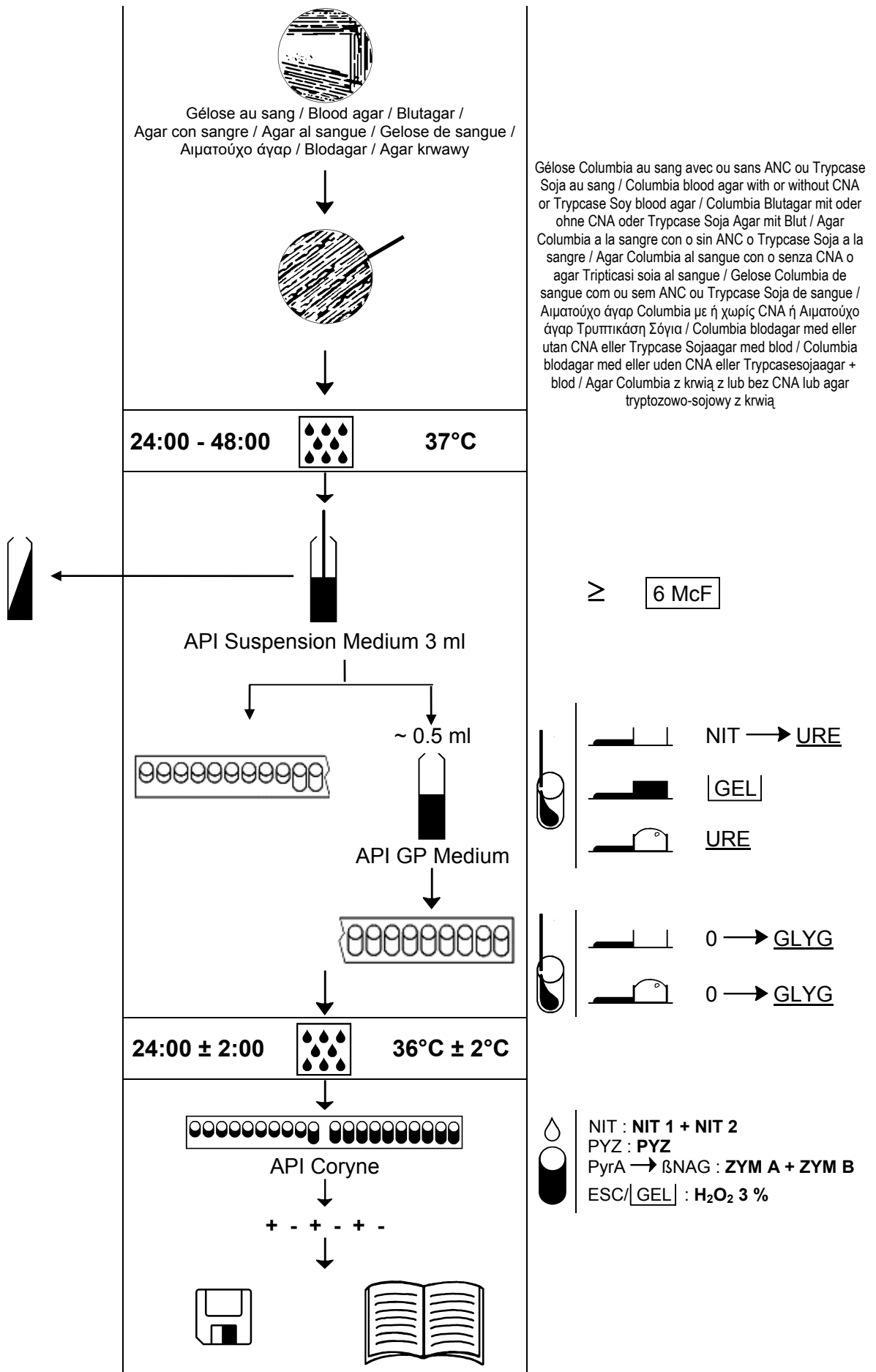


bioMérieux SA
RCS LYON 673 620 399
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tél. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
www.biomerieux.com

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 / METODYKA



**TABLEAU D'IDENTIFICATION / IDENTIFICATION TABLE / PROZENTTABELLE / TABLA DE IDENTIFICACION / TABELLA DI IDENTIFICAZIONE /
 QUADRO DE IDENTIFICAÇÃO / ΠΙΝΑΚΑΣ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗΣ / IDENTIFIERINGSTABELL / IDENTIFIKATIONSTABEL / TABELA IDENTYFIKACYJNA**









% de réactions positives après 24 H (± 2 H) à 36°C ± 2°C / % of positive reactions after 24 hrs. (± 2 hrs.) at 36°C ± 2°C / % der positiven Reaktionen nach 24 Std. (± 2 Std.) bei 36°C ± 2°C /
 % de la reacciones positivas después de 24 H (± 2 H) a 36°C ± 2°C / % di reazioni positive dopo 24 ore (± 2 ore) a 36°C ± 2°C / % de reacções positivas após 24 H (± 2 H) a 36°C ± 2°C /
 % θετικών αντιδράσεων μετά από 24 ώρες (± 2 ώρες) στους 36°C ± 2°C / % positiva reaktioner efter 24 tim. (± 2 tim.) vid 36°C ± 2°C /
 % positive reaktioner efter 24 timer (± 2 timer) ved 36°C ± 2°C / % pozytywnych reakcji po 24 godzinach (± 2 godziny) w 36°C ± 2°C

API CORYNE V3.0	NIT	PYZ	PYRA	PAL	BGUR	BGAL	AGLU	BNAG	ESC	URE	GEL	0	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	LAC	SAC	GLY	CAT
<i>Actinomyces neuii</i> ssp <i>anitratus</i>	0	100	0	63	0	100	100	0	0	0	0	0	54	89	10	10	36	0	10	0	99
<i>Actinomyces neuii</i> ssp <i>neuii</i>	99	100	0	1	0	100	100	0	0	0	0	0	97	89	24	89	89	1	75	0	100
<i>Actinomyces radingae</i>	0	100	0	0	0	100	100	100	100	0	0	0	42	50	35	0	42	0	0	0	0
<i>Actinomyces turicensis</i>	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Arcanobacterium bernardiae</i>	0	100	71	0	0	0	100	0	0	0	0	0	50	100	0	0	100	0	0	100	0
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	4	90	59	90	18	85	87	83	0	0	1	0	100	83	1	1	99	100	50	0	1
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	1	1	98	71	99	96	98	47	1	0	99	0	100	100	96	1	99	94	56	19	1
<i>Arthrobacter</i> spp	31	100	62	56	37	56	75	14	31	1	50	0	1	1	0	0	0	0	0	0	100
<i>Brevibacterium</i> spp	25	70	70	92	0	20	62	20	20	0	66	0	25	20	7	0	25	20	20	0	100
<i>Cellulomonas</i> spp/ <i>Microbacterium</i> spp	42	100	31	22	1	82	100	68	98	0	25	0	100	22	68	65	98	31	98	20	100
<i>Cellulosimicrobium cellulans</i> .	98	100	90	98	1	98	100	90	100	0	95	0	98	98	95	0	98	33	98	76	100
<i>Corynebacterium accolens</i>	100	50	42	0	0	0	0	1	0	0	0	0	100	98	0	7	1	0	28	0	100
<i>Corynebacterium afermentans/coyleae</i>	0	100	76	100	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	100
<i>Corynebacterium argenteoratense</i>	0	100	0	55	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	100
<i>Corynebacterium auris/Turicella otitidis</i>	0	100	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
<i>Corynebacterium bovis</i>	1	42	58	100	0	90	0	0	1	60	0	0	42	1	0	0	0	0	0	0	100
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> ssp <i>gravis</i>	99	1	0	12	0	0	100	0	0	0	0	0	100	100	0	0	100	1	1	99	100
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> ssp <i>mitis/belfanti</i>	46	0	0	1	0	0	96	0	0	0	0	0	100	99	0	0	100	0	3	3	100
<i>Corynebacterium glucuronolyticum</i>	58	100	27	1	100	14	1	0	37	62	1	0	100	47	33	0	27	2	97	0	100
<i>Corynebacterium</i> group F-1	71	100	0	1	0	0	0	0	0	99	0	0	99	28	0	0	100	0	100	0	99
<i>Corynebacterium</i> group G	17	99	42	99	0	0	0	0	1	0	0	0	100	100	0	1	50	0	92	0	100
<i>Corynebacterium jeikeium</i>	3	89	5	100	0	0	0	0	1	1	0	0	98	83	0	0	21	0	1	1	99
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	82	64	100	0	0	0	100	0	100	100	0	0	100	100	0	0	100	0	100	0	100
<i>Corynebacterium macginleyi</i>	93	0	38	99	0	0	1	0	0	3	0	0	100	87	0	3	6	1	93	1	99
<i>Corynebacterium propinquum</i>	71	71	35	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	98	93	58	53	0	0	1	0	1	92	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	100
<i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	2	1	0	50	0	0	50	0	0	100	1	0	100	100	0	0	81	0	0	1	100
<i>Corynebacterium renale</i> group	6	85	0	10	100	0	0	0	0	100	0	0	100	99	3	0	0	0	0	0	93
<i>Corynebacterium ulcerans</i>	1	1	1	99	0	1	99	1	1	99	1	0	100	99	1	1	99	1	13	99	100
<i>Corynebacterium urealyticum</i>	1	98	0	50	0	1	1	0	4	100	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	100
<i>Corynebacterium striatum/amycolatum</i>	57	97	15	97	0	0	1	0	2	13	0	0	100	45	0	1	71	0	69	1	100
<i>Dermabacter hominis</i>	0	0	99	96	0	100	100	100	100	0	0	0	100	99	31	0	99	99	100	0	100
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	1	7	70	0	0	8	0	96	0	14	0	0	67	45	0	0	1	60	0	1	0
<i>Gardnerella vaginalis</i>	4	89	1	0	0	43	65	18	2	1	0	0	99	91	4	2	97	1	13	53	4
<i>Listeria grayi</i>	42	92	0	7	0	0	42	92	100	0	0	0	100	100	0	99	100	92	17	0	98
<i>Listeria monocytogenes/innocua</i>	2	66	0	69	0	4	99	99	100	0	0	0	100	1	3	0	100	64	8	0	100
<i>Listeria</i> spp	2	29	0	58	0	1	94	73	100	0	0	0	100	28	95	0	100	32	2	0	100
<i>Microbacterium</i> spp/ <i>Leifsonia aquatica</i>	26	99	10	57	0	63	100	80	95	0	52	0	0	0	0	0	0	0	1	0	99
<i>Propionibacterium acnes</i>	24	0	63	36	54	89	63	100	0	0	1	0	89	63	0	2	0	0	0	0	100
<i>Propionibacterium avidum</i>	0	9	66	0	0	100	66	97	90	0	78	0	97	90	0	2	78	0	66	0	100
<i>Rhodococcus</i> spp	53	71	13	97	0	1	86	1	50	20	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
<i>Rothia dentocariosa</i>	100	100	99	21	0	0	100	0	99	0	2	0	100	0	0	0	100	0	100	0	100

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

1. BORLING S.L., KONEMAN E.W., HARRIS E.E., ALLEN S.D.
Identification of *Corynebacterium* species with the RAPID CORYNE System.
(1993) Atlanta, ASM Meeting, Abstract N° C330.
2. FRENEY J., DUPERRON M.T., COURTIER C., HANSEN W., ALLARD F., BOEUFGRAS J.M., MONGET D., FLEURETTE J.
Evaluation of API CORYNE in Comparison with Conventional Methods for Identifying Coryneform Bacteria.
(1991) J. Clin. Microbiol., 29, 38-41.
3. FUNKE G., RENAUD F.N.R., FRENEY J. *et al.*
Multicenter evaluation of the updated and extended API (Rapid) Coryne database 2.0.
(1997) J. Clin. Microbiol., 35, 3122-3126.
4. GAVIN S.E., LEONARD R.B., BRISLIDEN A.M., COYLE M.B.
Evaluation of the Rapid CORYNE Identification System for *Corynebacterium* Species and Other Coryneforms.
(1992) J. Clin. Microbiol., 30, 1692-1695.
5. KERR K.G., HAWKEY P.M., LACEY R.W.
Evaluation of the API CORYNE System for Identification of *Listeria* species.
(1993) J. Clin. Microbiol., 31, 749-750.
6. MIKI K., SAKO H., INOUE K., SAKAZAKI R.
Evaluation of the API CORYNE identification system for nonsporeforming, Gram-positive rods.
(1993) Journal of the Association Rapid Method and Automation in Microbiology, 5, 131-135.
7. PELOUX Y., CANIAUX I.
Identification des corynébactéries et germes apparentés - Apport d'une nouvelle galerie d'identification : API CORYNE.
(1990) Feuilles de Biologie, 31 (177), 27-34.
8. SOTO A., ZAPARDIEL J., SORIANO F.
Evaluation of API CORYNE system for identifying coryneform bacteria.
(1994) J. Clin. Pathol., 47, 756-759.
9. 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 / Símbolo Σύμβολο	Signification / Meaning / Bedeutung Significado / Significato / Επεξήγηση Betydelse / Betydning / Znaczenie
	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
	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
	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 «n» εξετάσεις Räcker till "n" antal tester Indeholder tilstrækkeligt til "n" test Wystarczy na wykonanie <n> testów