



ANAEROTest 23



Kat. č.: MLT00001

Pro mikrobiologii

Souprava ANAEROTest 23 je určena pro rutinní identifikaci anaerobních bakterií, vyskytujících se nejčastěji v klinickém materiálu a v potravinách. Souprava umožňuje provést identifikaci kmenů, pomocí dvacetitří biochemických testů. Testy jsou umístěny v jamkách mikrotitrační destičky, vždy tři řady po osmi jamkách obsahují testy pro identifikaci jednoho kmene.

Souprava ANAEROTest 23 obsahuje:

- 10 mikrotitračních destiček (každá pro identifikaci 4 kmenů) se sušidlem
- Návod na použití s diferenciální tabulkou
- Barevná srovnávací stupnice pro soupravu ANAEROTest 23
- 10 PE sáčků pro inkubaci
- Skladovací sáček (na uložení nespotřebované destičky), 1 ks
- 40 formulářů pro záznam výsledků
- Víčko

Skladování, exspirace:

ANAEROTest 23 je třeba skladovat při teplotě (+2 až +8)°C. Exspirace je vyznačena na každém balení.

Doporučený pracovní postup pro ANAEROTest 23

Potřeby pro práci se soupravou ANAEROTest 23,

které nejsou součástí soupravy:

- Suspenzní médium pro ANAEROTest 23 (kat. č. MLT00024 – 20 stanovení)
- Činidlo pro test INDOL (kat. č. MLT00020 – 310 stanovení)
- Činidlo pro test NITRÁTY (kat. č. MLT00021 – 460 stanovení)
- Parafinový olej sterilizovaný (kat. č. MLT00042 – 750 stanovení)
- Petriho misky s kultivačním médiem
- Přístroj Densi-La-Meter II, kat. č.: INS00062
- Automatická mikropipeta 0,15 ml, sterilní špičky
- Zařízení pro kultivaci v anaerobní atmosféře (anaerostat)
- Indikátor anaerobní atmosféry
- Termostat 35–37 °C
- Běžné laboratorní mikrobiologické vybavení (kličky, popisovače, kahan)

Identifikační pomůcky, které nejsou součástí soupravy:

- Kódová kniha pro soupravu ANAEROTest 23 - umístěna na www.eralachema.com (sekce Mikrobiologie)
- Identifikační program ErbaExpert.

Upozornění:

- Souprava je určena pouze k profesionálnímu použití

Dodržujte zásady pro práci s infekčním materiélem!

Izolace kultur:

- Používejte média, doporučovaná pro izolaci a kultivaci anaerobních bakterií, např. Wilkins-Chalgren.
- Z čisté kultury provedte Gramovo barvení a zaznamenejte mikroskopickou morfologii (tvar a seskupení buněk, tvorba spor).
- Gramovo barvení lze v případě nejasnosti doplnit KOH testem (3% KOH).
- U grampozitivních tyček doporučujeme provést test na termorezistenci (80 °C/15 min.).
- Pro kontrolu provedte vždy paralelně aerobní kultivaci.

Příprava destičky ANAEROTest 23:

- Otevřete aluminiový sáček odstříhnutím těsně vedle sváru a vyjměte destičku.
- Pomocí skalpelu odřízněte příslušný počet řad (stripů) destičky, odpovídající počtu testovaných kmenů (3 řady, tj. 3x8 testů, pro identifikaci jednoho kmene).
- Vyříznuté řady vyjměte z panelu, sejměte ochrannou Al fólii, řady umístěte do připraveného prázdného rámečku. V případě, že se soupravou MIKROLATEST® pracujete poprvé a prázdný rámeček nemáte k dispozici, použijte rámeček první destičky. Nevyužité stripы první destičky pak uložte ve skladovacím sáčku volně.
- Zaznamenejte čísla vyšetřovaných kultur na příslušné stripы.
- Zbytek nepoužité destičky se sušidlem vložte do přiloženého skladovacího ALU sáčku na uložení nezužitkováné destičky a uložte do chladničky pro další použití; dbejte na to, aby destička byla chráněna před vlhkostí. Doporučujeme destičku po prvém použití spotřebovat do 4 týdnů.



Příprava inkulka:

- Z čisté 48 h kultury připravte v Suspenzním médiu pro ANAEROTest 23 suspenzi. Suspenzi dobře homogenizujte.
- Zákal suspenze musí odpovídat 3. stupni McFarlandovy zákalové stupnice. Slabší nebo hustší suspenze může vést k falešným reakcím.
- Při homogenizaci suspenze držte ampulkou se suspenzním médiem kolmo a kličkou pohybujte podél vnitřní strany ampulky, aby se snížilo pronikání vzduchu na minimum.

Poznámka:

Případné nerovnoměrné rozložení substrátu v jamce nemá vliv na funkčnost testu.

Ověření čistoty inkulka:

V případě, že chcete ověřit čistotu inkulka, provedte stejnou kličkou jakou jste připravili suspenzi křížový roztří. Čistotu kultury posuzujte před odečítáním výsledků testu.

Inkulace:

- Před inkulací suspenzi několikrát mikropipetou nasajte a vypusťte (špičku pipety nevytahujte ze suspenzního média), aby došlo k dokonale homogenizaci.
- Inkulujte 0,15 ml suspenze do všech jamek v příslušných třech řadách destičky.
- Test IND (jamka H v první řadě) zakapejte 2 kapkami parafinového oleje (parafinový olej zabíráuje těkání indolu v případě pozitivní reakce).
- Při inkulaci dbejte na to, aby nedošlo ke kontaminaci sousedních jamek.

Poznámka:

- Při použití nové šáržy destiček ANAEROTest 23 naočkujte současně kontrolní kmeny pro ověření barevného vyjádření pozitivních a negativních reakcí.
- V případě přípravy inkulka a inkulace ANAEROTestu 23 na vzduchu je třeba pracovat co nejrychleji, aby byla maximálně zkrácena doba, po kterou je kultura vystavena působení vzdušného kyslíku.

Poznámka: Víčko destičky je potisknuto zkratkami testů a symboly:

- (zakapat parafínovým olejem) a Δ (přidat činidlo).

V případě, že víčko v průběhu práce používáte na příkrytí destičky, před použitím jeho vnitřní stranu otřete ethanolem.

Inkubace:

- Vložte rámeček destičky s naočkovanými řadami do inkubačního PE sáčku.
- Otevřený konec sáčku zahněte pod destičku, aby nedošlo k vysychání inkulka.
- Inkubujte ANAEROTest 23 v anaerobní atmosféře (80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂), po dobu 48 h při teplotě 37 °C.
- ANAEROTest 23 inkubujte vždy s indikátorem anaerobní atmosféry.

Hodnocení:

- Po 48 hodinách inkubace provedte zhodnocení reakcí:
 - Zkontrolujte negativní růst na Petriho misce, inkubované za aerobních podmínek.
 - Na destičce ANAEROTestu 23 zakapejte činidly jamky:
 - 1. řada, jamka H (test indol) – 2 kapky činidla pro IND
 - 2. řada, jamka H (test nitráty) – 1 kapka činidla pro NIT.
 - Odečtěte barevné reakce všech testů a výsledky zaznamenejte, pomocí symbolů + a – pro pozitivní a negativní reakce, do formuláře pro záznam výsledků.

Poznámka:

- Zbarvení pozitivní reakce testu na hydrolýzu eskulinu (3. řada, jamka H) je intenzivnější po 3–5minutové expozici na vzduchu.
- Do jamek s testem Nitráty s negativní reakcí doporučujeme přidat Zn prášek (na špičku lancety, tj. asi 0,5 mg zinku); v případě negativní reakce vzniká do 10 min červené zbarvení (přitomný dusičnan je zinkem redukován na dusitan, který reaguje s činidlem za vzniku červeného zbarvení).
- Pro hodnocení barevných reakcí použijte tabulku „Interpretace reakcí“, Barevnou srovnávací stupnice pro soupravu ANAEROTest 23, nebo se orientujte podle barevných reakcí kontrolních kmenů.
- V případě redukce indikátoru v některé z jamek s testy na acidifikaci cukrů (ve sloupích G–B; mimo B2test NAG; jamka bezbarvá, světle slámově žlutá, světle purpurová), přikápněte do jamky kapku 0,02 % roztoku bromkrezolové červené (pH 6,8).
- Jamka A ve 3. řádku neobsahuje žádný test a může sloužit pro kontrolu růstu; v případě pochybností (negativní všechny reakce) vyočkujte kulturu z jamky na P. misku s agarovým médiem a inkubujte za anaerobních podmínek.

Identifikace:

- Podle mikroskopie zařaďte nejprve identifikovanou anaerobní bakterii do jedné ze čtyř skupin:
 1. **G-** tyčky
 2. **G+** sporulující tyčky
 3. **G+** nesporulující tyčky
 4. Koky
- Identifikaci v příslušné skupině provedte pomocí identifikační tabulky nebo pomocí Kódové knihy pro soupravu ANAEROTest 23, ev. pomocí identifikačního programu ErbaExpert.
- Při identifikaci posuzujte kulturu komplexně, s přihlédnutím k morfologickým znakům, informacím o zdroji izolace, výsledkům doplňkových testů, výsledkům zkoušky patogenity, zkoušky toxicity apod.
- V případě neúspěšné identifikace opakujte ANAEROTest 23, případně identifikaci doplňte o další testy.

Likvidace použitého materiálu:

- Po použití vložte destičku do nádoby pro infekční materiál a autoklávujte nebo zničte spálením.
- Prázdné papírové obaly se předají do sběru k recyklaci.

Tabulka 1: Gramnegativní anaerobní tyčky

Řádek 1												Řádek 2												Identifikace			
H IND	G GLU	F MLT	D FRU	C GAL	B LAC	A MLZ	H SUC	G NIT	F SAL	D TRE	C MAN	B RHA	A NAG	H bGL	E ESL	D MNS	G RAF	F CEL	E XYL	D C	C SOR	B ARA	Morfologie				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	+	-	-	-	-	-	-	-	-	Anaerohabdus furcosa			
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Alistipes putredinis			
+	+	-	d	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	Bacteroides eggertii			
-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	d	+	-	-	-	-	-	Bacteroides fragilis			
+	+	+	+	+	d	-	-	(+)	d	-	+	+	+	+	+	+	d	+	+	+	+	-	-	Bacteroides ovatus			
+	+	+	+	+	(-)	-	-	(-)	d	-	+	+	+	+	+	+	d	+	+	+	+	-	-	Bacteroides thetaiotaomicron			
+	+	+	+	d	+	-	-	d	-	-	d	-	-	+	+	+	d	+	+	+	+	-	-	Bacteroides uniformis			
-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	(-)	+	+	-	+	-	-	Bacteroides vulgatus			
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	-	-	Campylobacter gracilis			
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Campylobacter ureolyticus			
-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	+	+	-	-	-	-	Capnocytophaga ochracea			
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	Dialister pneumosintes			
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Fusobacterium mortiferum			
-	+	(-)	+	d	+	-	-	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	d	(-)	-	-	-	-	-	-	Fusobacterium necrophorum		
+	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Fusobacterium nucleatum			
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	Leptotrichia buccalis			
d	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	Mitsuokella multacida			
-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	+	d	+	d	+	(+)	d	Parabacteroides distasonis		
-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	Porphyromonas asaccharolytica			
-	+	+	(-)	(-)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	Prevotella bivia			
(+)	+	(+)	-	(-)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	Prevotella buccalis			
-	(+)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	Prevotella intermedia			
-	(+)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	+	+	-	-	-	-	Prevotella melaninogenica			
-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	+	+	+	-	-	-	Prevotella oralis			

Tabulka 2: Grampozitivní anaerobní sporující tyčky

Wysvetlivky: T = spóry terminální ST = spóry subterminální C = spóry centrální

Tabulka 3: Grampozitivní anaerobní nesporující tyčky

Řádek 1														Řádek 2														Řádek 3														Identifikace
H IND	G GLU	F MLT	E FRU	D C	C LAC	B MLZ	A URE	H NIT	G SUC	F SAL	E TRE	D MAN	C RHA	B NAG	A bG	H ESL	G MNS	F RAF	E CEL	D ARA	C XYL	B SOR																				
-	+	+	+	+	(+)	(-)	-	(+)	+	(+)	d	(+)	(-)	-	+	(+)	d	(+)	(+)	(+)	d	d	d	d	shluky pleomorfních vláken i krátké, dichotomicky se větvící tyčky	Actinomyces israelii																
-	+	(+)	+	+	(+)	(-)	+	(+)	+	d	d	(-)	(-)	-	+	(-)	(+)	+	d	-	-	-	-	-	-	kratší i delší tyčky se združelymi konci deši pleomorfni tyčky	Actinomyces naeslundii															
-	+	(+)	+	+	+	-	-	+	+	d	-	-	(-)	-	-	-	-	(-)	d	-	-	-	-	-	-	Actinomyces odontolyticus																
-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Velice krátké tyčky se združelymi konci	Bifidobacterium breve																
-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	Krátké, silné tyčky se združelymi konci	Bifidobacterium dentatum																
-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	dlouhé tyčky se združelymi konci, v párech	Bifidobacterium longum susp. longum																
-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	Krátké tyčky seřetzené za sebou	Collinsella aerofaciens																
-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	Velice krátké tyčky seřetzené za sebou	Eubacterium contortum																
-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	Velice krátké tyčky až kokatýčky, jednotlivě i ve dvojicích	Eggerthella lenta																
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	Kratší i delší nepravidelné tyčky	Eubacterium limosum																
-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	Velice dlouhé, štíhlé tyčky	Eubacterium saburreum																
-	+	+	d	d	+	d	d	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	Krátké, silné tyčky	Eubacterium tenuie																
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	dlouhé, vlnitné tyčky	Eubacterium tortuosum																
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	Lactobacillus catenaformis	Pseudoramibacter alactolyticus																
-	+	d	+	+	d	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	dlouhé, štíhlé nepravidelné tyčky	Propionibacterium acnes																
-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	Krátké, silné tyčky, v párech	Propionibacterium granulosum																
(+)	+	-	+	d	-	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	Krátké, dichotomicky se větvící tyčky se zakulacenými a združelymi konci	Propionibacterium propionicum																
-	+	+	+	d	-	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	Krátké, dichotomicky se větvící tyčky se združelymi konci	Propionibacterium propionicum																

Nejčastější možné příčiny neúspěchu při identifikaci:

- Smíšená nebo kontaminovaná kultura.
- Použití inokula malé hustoty nebo malého objemu.
- Inokulum bylo rozstříknuto i do sousední řady.
- Při hodnocení bylo činidlo vkápnuto do sousední řady.
- Nedodržení pracovního postupu.
- Nebylo dosaženo požadovaných parametrů pro anaerobní kultivaci.
- Může se jednat o atypický kmen nebo zástupce druhu, který není uveden v Identifikačních tabulkách.

Vlastnosti soupravy:

Souprava byla testována na soubor 80 klinicky významných kmenů.
Všechny kmeny byly správně identifikovány.

Kontrola kvality testů:

Kvalita chemikálií používaných pro výrobu destiček ANAEROTest 23 je ověřována standardním testovacím postupem. Vyrobené série destiček jsou rovněž kontrolovány funkční zkouškou pomocí kontrolních bakteriálních kmenů. Pro práci s destičkami ANAEROTest 23 na Vašem pracovišti doporučujeme použít kontrolní kmeny, uvedených v tabulce **Kontrolní kmeny** (viz níže). Také pro rutinní diagnostiku doporučujeme používat tyto standardní testovací kmeny pro ověření správnosti metodického postupu, průběhu testů a barevného vyjádření reakcí. Kontrolní kmeny lze doporučit použít vždy při použití nové šarže soupravy, respektive dle validačního řádu laboratoře. Na kontrolu funkčnosti soupravy je nutné použít vždy čerstvé izoláty kontrolních kmenů. **Pozor - tyto kmeny slouží pouze pro kontrolu funkčnosti soupravy, nikoli pro kontrolu správnosti, či úspěšnosti identifikace!**

- Lactobacillus rhamnosus* CCM 1828 (ATCC 9595)
- Clostridium sordellii* CCM 4611
- Propionibacterium acnes* CCM 3343

Tyto kmeny dodává CCM – Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz.

Kmeny jsou dodávány v lyofilizovaném stavu nebo na želatinových discích.

Kontrolní kmeny

Řádek	H	G	F	E	D	C	B	A
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> CCM 1828 (ATCC 9595)								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	-	+	+	+	+	+	+	-
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	-	+	+	+	+	+	+	+
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	+	+	-	+	-	-	-	x
<i>Clostridium sordellii</i> CCM 4611								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	+	+	+	+	-	-	-	+
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	-	-	-	-	-	-	-	-
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	-	-	-	-	-	-	-	x
<i>Propionibacterium acnes</i> CCM 3343								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	+	+	-	+	-	-	-	-
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	+	-	-	-	-	-	+	-
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	-	+	-	-	-	-	+	x

Vysvětlivky: + = pozitivní reakce

- = negativní reakce

x = kontrola růstu

Ochrana zdraví:

Komponenty soupravy nejsou klasifikovány jako nebezpečné.

ANAEROTest 23

INTERPRETACE REAKCÍ

Sloupec	Test	Zkratka testu	Reakce	
			pozitivní	negativní
Řádek 1				
H	Indol	IND	červenofialová, červená, růžová	nažloutlá
G	Glukóza	GLU	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
F	Maltóza	MLT	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
E	Fruktóza	FRU	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
D	Galaktóza	GAL	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
C	Laktóza	LAC	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
B	Melezitóza	MLZ	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
A	Ureáza	URE	červenofialová, červená	žlutá, světle oranžová
Řádek 2				
H	Nitráty	NIT	tmavě červená, červená	bezbarvá, narůžovělá
G	Sacharóza	SUC	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
F	Salicin	SAL	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
E	Trehalóza	TRE	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
D	Manitol	MAN	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
C	Rhamnóza	RHA	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
B	N-acetyl-β-glukosamidáza	NAG	žlutá	bezbarvá
A	β-glukosidáza	bGL	žlutá	bezbarvá
Řádek 3				
H	Eskulín	ESL	černá, tmavě hnědá, tmavě šedá	bezbarvá, světle hnědá, světle šedá
G	Mannoza	MNS	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
F	Raffinóza	RAF	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
E	Cellobióza	CEL	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
D	Xylóza	XYL	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
C	Arabinóza	ARA	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
B	Sorbitol	SOR	žlutá, žlutohnědá	fialová, hnědofialová
A	Kontrola růstu	CON		

POUŽITÉ SYMBOLY



Katalogové číslo



In vitro diagnostikum



Výrobce



Čtěte návod k použití



Číslo šarže



Teplota skladování



Datum expirace



ANAEROTest 23



Kat. č.: MLT00001

Pre mikrobiológiu

Súprava ANAEROTest 23 je určená na rutinovú identifikáciu anaerobných baktérií, vyskytujúcich sa najčastejšie v klinickom materiáli a v potravinách. Súprava umožňuje vykonať identifikáciu kmeňov, pomocou dvadsaťtichroč biochemických testov. Testy sú umiestnené v jamkách mikrotitračnej doštičky, vždy tri rady po ôsmich jamkách obsahujúcich testy na identifikáciu jedného kmeňa.

**Súprava ANAEROTest 23
obsahuje:**

- 10 mikrotitračné doštičky (každá na identifikáciu 4 kmeňov) so sušidlom
- Návod na použitie s diferenciáčnou tabuľkou
- Farebná porovnávacia stupnica pre súpravu ANAEROTest 23
- 10 PE vrecúška na inkubáciu
- Skladovací sáčok (na uloženie nez užitkovanej doštičky), 1 ks
- 60 formulárov na záznam výsledkov
- Viečko

Skladovanie exspirácia:

ANAEROTest 23 je potrebné skladovať pri teplote (+2 až +8) °C. Exspirácia je vyznačená na každom balení.

Odporučený pracovný postup na ANAEROTest 23

Potreby na prácu so súpravou ANAEROTest 23, ktoré nie sú súčasťou súpravy:

- Suspenzné médium na ANAEROTest 23 (kat. č. MLT00024 – 20 stanovení)
- Činidlo na test INDOL (kat. č. MLT00020 – 310 stanovení)
- Činidlo na test NITRÁTY (kat. č. MLT00021 – 460 stanovení)
- Parafínový sterilizovaný olej (kat. č. MLT00042 – 750 stanovení)
- Petriho misky s kultivačným médiom
- Prístroj Densi-La-Meter II, kat. č.: INS00062
- Automatická mikropipeta 0,15 ml, sterilné špičky
- Zariadenie na kultiváciu v anaeróbnej atmosfére (anaerostat)
- Indikátor anaeróbnej atmosféry
- Termostat 35–37 °C
- Bežné laboratórne mikrobiologické vybavenie (tyčinky, popisovače, kahan)

Identifikačné pomôcky, ktoré nie sú súčasťou súpravy:

- Kódová kniha pre súpravu ANAEROTest 23 - umiestnená na www.eralachema.com
- Identifikačný program ErbaExpert.

Upozornenie:

- Súprava je určená iba na profesionálne použitie

**Dodržujte zásady bezpečnosti pri práci
s infekčným materiáлом!**

Izolácia kultúr:

- Používajte médiá odporučované na izoláciu a kultiváciu anaeróbnych baktérií, napr. Wilkins-Chalgen.
- Z čistej kultúry vykonajte Gramovo sfarbenie a zaznamenajte mikroskopickú morfológiu (tvar a zoskupenie buniek, tvorba spór).
- Gramovo sfarbenie je možné v prípade nejasnosti doplniť KOH testom (3% KOH).
- Pri grampozitívnych tyčkách odporučujeme vykonať termorezistenciu (80 °C/15 min.).
- Kvôli kontrole vykonajte vždy paralelne anaeróbnu kultiváciu.

Príprava doštičky ANAEROTest 23:

- Otvorte alumíniový sáčok odstrihnutím tesne vedľa zvaru a vyberte doštičku.
- Pomocou skalpelu odrežte príslušný počet radov (stripov) doštičky, odpovedajúci počtu testovaných kmeňov (3 rady, t.j. 24 jamiek, na identifikáciu jedného kmeňa).
- Vyrezané rady vyberte z doštičky, odstráňte ochrannú Al fóliu, rady umiestnite do pripraveného prázdnego rámkika. V prípade, že so súpravou MIKROLATEST® pracujete prvý raz a prázdný rámkik nemáte k dispozícii, použite rámkik prvej doštičky. Nevyužité stripky prvej doštičky potom uložte voľne v skladovacom sáčku.
- Zaznamenajte čísla vyšetrovaných kultúr na príslušné stripky.
- Zbytok doštičky so sušidlom vložte do priloženého sklad. alumíniového sáčka na uloženie nez užitkovanej doštičky a uložte do chladničky na ďalšie použitie; dbajte na to, aby doštička bola chránená pred vlhkosťou. Odporučame doštičku po prvom použití spotrebovať do 4 týždňov.



Príprava inokula:

- Z čistej 48 h kultúry pripravte v Suspenznom médiu na ANAEROTest 23 suspenziu. Suspenziu dobre homogenizujte.
- Zákal suspenzie musí zodpovedať 3. stupňu McFarlandovej zákalovej stupnice. Slabšia alebo hustejšia suspenzia môže viesť k falošným reakciám.
- Pri homogenizácii suspenzie držte ampulku so suspenzným médiom kolmo a tyčinkou pohybujte pozdĺž vnútornej strany ampulky, aby sa znižilo prenikanie vzduchu na minimum.

Poznámka:

Prípadné nerovnomerné rozloženie substrátu v jamke nemá vplyv na funkčnosť testu.

Posúdenie čistoty inokula:

Tou istou tyčinkou ako ste pripravili suspenziu vykonajte súčasne krízový rozter. Čistotu kultúry skontrolujte pred hodnotením reakcií.

Inokulácia:

- Pred inokuláciou suspenziu niekoľkokrát mikropipetou nasajte a vypustite (špičku pipety nevyťahujte zo suspenzného média), aby došlo k dokonalej homogenizácii.
- Inokulujte 0,15 ml suspenzie do všetkých jamiek v príslušných troch radoch doštičky.
- Test IND (jamka H v prvom rade) zakvapkajte 2 kvapkami parafínového oleja (parafínový olej zabraňuje vyrážaniu indolu v prípade pozitívnej reakcie).
- Pri inokulácii dbajte na to, aby nedošlo ku kontaminácii susedných jamiek.

Poznámka:

- Pri použíti nevej šarže doštičiek ANAEROTest 23 naočkujte súčasne kontrolné kmene na overenie farebného vyjadrenia pozitívnych a negatívnych reakcií.
- V prípade prípravy inokula a inokulácie ANAEROTestu 23 na vzduchu je potrebné pracovať čo najrýchlejšie, aby bol maximálne skrátený čas, počas ktorého je kultúra vystavená pôsobeniu vzdušného kyslíka.

Poznámka: Na viečku doštičky sú vytlačené skratky testov a symboly:

- (zakvapkať parafínovým olejom) a Δ (pridať činidlo)

V prípade, že viečko v priebehu práce používate na prekrytie doštičky, pred použitím jeho vnútornú stranu otrite etanolom.

Inkubácia:

- Vložte rámk doštičky s naočkovanými radmi do inkubačného PE vrecúška.
- Otvorený koniec vrecúška zahnite pod doštičku, aby nedošlo k vysychaniu inokula.
- Inkubujte ANAEROTest 23 v anaeróbnej atmosfére (80 % N₂, 10 % H₂, 10 % CO₂) 48 h pri teplote 37 °C.
- ANAEROTest 23 inkubujte vždy s indikátorom anaeróbnej atmosféry.

Hodnotenie:

- Po 48 hodinách inkubácie vykonajte zhodnotenie reakcií:
 - Skontrolujte negatívny rast na Petriho miske, inkubovanej za aeróbnych podmienok.
 - Na doštičke ANAEROTestu 23 zakvapkajte činidlami jamky:
 - 1. rad, jamka H (test indol) – 2 kvapky činidla na IND
 - 2. rad, jamka H (test nitráty) – 1 kvapka činidla na NIT.
 - Prečítajte farebné reakcie všetkých testov a zaznamenajte, pomocou symbolov + a – pre pozitívne a negatívne reakcie, do formulára pre záznam výsledkov.

Poznámka:

- Sfarbenie pozitívnej reakcie testu na hydrolózu eskulínu (3. rad, jamka H) je najintenzívnejšie po 3–5 minútowej expozícii na vzduchu.
- Do jamiek s testom Nitráty s negatívou reakciou odporučujeme pridať Zn prášok (na špičku lancety, tj. asi 0,5 mg zinku); v prípade negatívnej reakcie vzniká do 10 min. červené sfarbenie (prítomný dusičnan je zinkom redukovaný na dusitan, ktorý reaguje s činidlom za vzniku červeného sfarbenia).
- Na hodnotenie farebných reakcií použíte tabuľku Interpretácie reakcií, Farebnú porovnávaciu stupnicu na súpravu ANAEROTest 23, alebo sa orientujte podľa farebných reakcií kontrolných kmeňov.
- V prípade redukcie indikátora v niektornej z jamiek s testami na acidifikáciu cukrov (v stípcach G-B; výjimä B2test NAG; jamka bezfarebná, bledo slamovo žltá, bledopurpurová), prikvapkajte do jamky kvapku 0,02 % roztoku brómrezolovej červene (pH 6,8).
- Jamka A v 3. riadku neobsahuje žiadny test a môže slúžiť na kontrolu rastu; v prípade pochybností (negatívne všetky reakcie) vyočkujte kultúru z jamky na P. misku s agarovým médiom a inkubujte za anaeróbnych podmienok.

Identifikácia:

- Podľa mikroskopie zaraďte najprv identifikovanú anaeróbnu baktériu do jednej zo štyroch skupín:
 1. **G-** tyčky
 2. **G+** sporulujúce tyčky
 3. **G+** nesporulujúce tyčky
 4. Koky
- Identifikáciu v príslušnej skupine vykonajte pomocou Identifikačnej tabuľky alebo pomocou Kódovej knihy súpravy ANAEROTest 23, ev. pomocou identifikačného programu ErbaExpert.
- Pri identifikácii posudzujte kultúru komplexne, s prihlásením na morfologicke znaky, informácie o zdroji izolácie, výsledky doplnkových testov, výsledky skúšky patogenity, skúšky toxicity a pod.
- V prípade neúspešnej identifikácie opakujte ANAEROTest 23, prípadne identifikáciu doplňte ďalšími testami.

Likvidácia použitého materiálu:

- Po použití vložte doštičku do nádoby na infekčný materiál a autoklávujte alebo zničte spálením.
- Prázdné papierové obaly dajte do zberu k recyklácii.

Tabuľka 1: Gramnegatívne anaeróbne tyčky

Riadok 1												Riadok 2												Identifikácia			
H IND	G GLU	F MLT	E FRU	D LAC	C MLZ	B URE	A NIT	H SUC	G SAL	F TRE	D MAN	C RHA	B NAG	A bGL	H ESL	G MNS	F RAF	E CEL	D XYL	C ARA	B SOR	Morfológia					
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	d	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Anerhabdus furcosa				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ d	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Alistipes putredinis				
+	+	-	d	+	-	-	-	-	-	+ +	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	Bacteroides eggertii				
-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	+	-	-	-	-	-	Bacteroides fragilis				
+	+	+	+	d	-	-	(+)	d	-	+ +	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	Bacteroides ovatus				
+	+	+	+	(-)	-	-	(-)	d	-	+ +	+	+	+	+	+	d	+	+	+	+	+	-	Bacteroides thetaiotaomicron				
+	+	+	+	d	+	-	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Bacteroides uniformis				
-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Bacteroides vulgatus				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Campylobacter gracilis				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Campylobacter ureolyticus				
-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Capnocytophaga ochracea				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Dialister pneumoniae				
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Fusobacter gonioidiformans				
-	+	(-)	d	+	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	d	(-)	-	-	-	-	-	-	Fusobacterium mortiferum				
+	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Fusobacterium necrophorum				
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Fusobacterium nucleatum				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Fusobacterium praeputiale				
d	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Leptotrichia buccalis				
-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Mitsuokella multacidica				
-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	d	(-)	+	d	+	d	+	d	Parabacteroides dispar				
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Porphyromonas asaccharolytica				
-	+	+	(-)	(-)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Prevotella bivia				
-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Prevotella buccalis				
(+)	+	(+)	+	-	(-)	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Prevotella intermedia				
-	(+)	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	(+)	-	-	-	-	-	Prevotella melaninogena				
-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	d	(+)	+	+	+	+	-	-	Prevotella oralis				

Tabuľka 2: Grampozitívne anaeróbne sporulujúce tyčky

Riadok 1												Riadok 2												Morfológia				Identifikácia	
H IND	G GLU	F MLT	D FRU	C GAL	B LAC	A MLZ	H NIT	G SUC	F SAL	D TRAMAN	C RHA	B NAG	A bGL	H ESL	G MNS	F RAF	E CEL	D XYL	C ARA	B SOR									
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium argentinense		
-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	(+)	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium baratii	
+	+	+	-	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium bifermentans	
-	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clost. botulinum A	
-	+	+	-	-	d	-	-	d	(-)	-	(-)	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium botulinum B	
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium botulinum C	
-	+	+	+	+	-	-	-	(-)	+	+	-	-	-	-	-	d	+	+	(+)	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium butyricum
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium cadaveris	
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium cochlearium	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium difficile	
-	+	+	-	(+)	-	-	(+)	-	+	-	(-)	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium cibalicum
-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium haemolyticum	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium histolyticum	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium chaovaei	
-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium glycolicum	
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium innocuum	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium limosum	
-	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium novyi A	
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium novyi B	
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium paraputificum	
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium perfringens	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium ramosum	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium septicum	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium sordellii	
(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(-)	d	-	-	(+)	d	+	+	+	d	-	-	-	-	-	Clostridium sphenoides	
-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium sporogenes	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium subterminaliae	
-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	+	-	+ d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium tertium	
d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Clostridium tetani	

Vysvetlivky: T = terminálne spóry ST = subterminálne spóry C = centrálné spóry

Tabuľka 3: Grampozitívne anaeróbne nesporulujúce tyčky

Riadok 1												Riadok 2												Morfológia				Identifikácia	
H IND	G GLU	F MLT	E FRU	D C	C LAC	B MLZ	A URE	H NIT	G SUC	F SAL	D TRE	C MAN	B RHA	A NAG	H bGL	E ESL	D MNS	G RAF	F CEL	E XYL	D CEP	C ARA	B SOR						
-	+	+	+	(+)	(-)	-	(+)	+	(+)	d	(+)	d	(-)	-	+	(+)	d	(+)	(+)	(+)	d	d	d						
-	+	(+)	+	(+)	(-)	+	(+)	+	d	d	(-)	(-)	(-)	-	-	(-)	(+)	+	d	-	-	-	-					Actinomyces israelii	
-	+	(+)	+	(+)	+	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	(-)	d	-	(-)	d	-	-	-					Zhluky pleomorfých vláčien i krátke, dichotomicky sa vetviace tyčky	
-	+	(+)	+	(+)	+	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(-)	d	-	(-)	d	-	-	-					kratšie i dlhšie tyčky s napuchnutými koncami
-	+	(+)	+	(+)	+	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(-)	d	-	(-)	d	-	-	-					dlhšie pleomorfne tyčky
-	+	(+)	+	(+)	+	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(-)	d	-	(-)	d	-	-	-					Actinomyces odontolyticus
-	+	(+)	+	(+)	+	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(-)	d	-	(-)	d	-	-	-					
-	+	(+)	+	(+)	+	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(-)	d	-	(-)	d	-	-	-					Bifidobacterium breve
-	+	(+)	+	(+)	+	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(-)	d	-	(-)	d	-	-	-					Bifidobacterium dentitum
-	+	(+)	+	(+)	+	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					Bifidobacterium longum susp. longum
-	+	(+)	+	(+)	+	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					Collinsella aerofaciens
-	+	(+)	+	(+)	+	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					Eubacterium contortum
-	+	(+)	+	(+)	+	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					krátkie tyčky zrežavené za sebou
-	+	(+)	+	(+)	+	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					krátkie tyčky zrežavené za sebou
-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					krátkie tyčky zrežavené za sebou
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					Eggerthella lenta
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					Kratšie i dlhšie nepravidelné tyčky
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					veľmi dlhé, tenké tyčky
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					Krátkie, hrubé tyčky
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					Eubacterium saburreum
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					Eubacterium tenuie
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					Eubacterium tortuosum
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					Lactobacillus catenaformis
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					Pseudoramibacter alactolyticus
(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(+)	d	-	(+)	d	-	-	-					Propionibacterium acnes
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(-)	d	-	(-)	d	-	-	-					Propionibacterium granulosum
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	d	-	-	-	-	(-)	d	-	(-)	d	-	-	-					Propionibacterium propionicum

Tabuľka 4: Anaeróbne koky

Vysvetlivky:

- + = pozitívna reakcia
- = negatívna reakcia

d = variabilná reakcia
G = gramnegatívne koky

Najčastejšie možné príčiny neúspechu pri identifikácii:

- Zmiešaná alebo kontaminovaná kultúra.
- Použitie inokula malej hustoty alebo malého objemu.
- Inokulum bolo rozstreknuté i do susedného radu.
- Pri hodnotení bolo činidlo vkvapnuté do susedného radu.
- Nedodržanie pracovného postupu.
- Nebolo dosiahnutých požadovaných parametrov na anaeróbnu kultiváciu.
- Môže sa jednáť o atypický kmeň alebo zástupcu druhu, ktorý nie je uvedený v Identifikačných tabuľkách.

Vlastnosti súpravy:

Súprava bola testovaná na súbore 80 klinicky významných kmeňov.
Všetky kmeňe boli správne identifikované.

Kontrola kvality testu:

Kvalita chemikalií používaných na výrobu doštičiek ANAEROTest 23 je overovaná štandardným testovacím postupom. Vyrobené série doštičiek sú taktiež kontrolované funkčnou skúškou pomocou kontrolných bakteriálnych kmeňov. Na prácu s doštičkami ANAEROTest 23 na Vašom pracovisku odporučujeme použiť kontrolných kmeňov, uvedených v tabuľke **Kontrolné kmene** (viď nižšie). Taktiež pre rutinnú diagnostiku praxou odporučujeme používať tieto štandardné testovacie kmene na overenie správnosti metodického postupu, priebehu testov a farebného vyjadrenia reakcií. Na kontrolu funkčnosti súpravy je nutné použiť vždy čerstvé izoláty kmeňov. **Pozor - tieto kmene slúži iba na kontrolu funkčnosti súpravy, nie na kontrolu správnosti, či úspešnosti identifikácie!**

- *Lactobacillus rhamnosus* CCM 1828 (ATCC 9595)
- *Clostridium sordellii* CCM 4611
- *Propionibacterium acnes* CCM 3343

Tieto kmene dodáva CCM – Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz.

Kontrolné kmene

Riadok	H	G	F	E	D	C	B	A
Lactobacillus rhamnosus CCM 1828 (ATCC 9595)								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	-	+	+	+	+	+	+	-
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	-	+	+	+	+	+	+	+
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	+	+	-	+	-	-	-	x
Clostridium sordellii CCM 4611								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	+	+	+	+	-	-	-	+
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	-	-	-	-	-	-	-	-
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	-	-	-	-	-	-	-	x
Propionibacterium acnes CCM 3343								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	+	+	-	+	-	-	-	-
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	+	-	-	-	-	-	+	-
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	-	+	-	-	-	-	+	x

Vysvetlivky: + = pozitívna reakcia

- = negatívna reakcia

x = kontrola rastu

Ochrana zdravia:

Komponenty súpravy nie sú klasifikované ako nebezpečné.

ANAEROTest 23

INTERPRETÁCIA REAKCIÍ

Stípec	Test	Skratka testu	Reakcia	
			pozitívna	negatívna
Riadok 1				
H	Indol	IND	červenofialová, červená, ružová	žltkastá
G	Glukóza	GLU	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
F	Maltóza	MLT	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
E	Fruktóza	FRU	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
D	Galaktóza	GAL	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
C	Laktóza	LAC	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
B	Melezitóza	MLZ	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
A	Ureáza	URE	červenofialová, červená	žltá, svetlooranžová
Riadok 2				
H	Nitráty	NIT	tmavočervená, červená	bezfarebná, ružovkastá
G	Sacharóza	SUC	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
F	Salicin	SAL	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
E	Trehalóza	TRE	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
D	Manitol	MAN	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
C	Ramnóza	RHA	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
B	N-acetyl-β-D-glukózamidáza	NAG	žltá	bezfarebná
A	β-glukozidáza	bGL	žltá	bezfarebná
Riadok 3				
H	Eskulín	ESL	čierna, tmavohnedá, tmavošedá	bezfarebná, bledohnedá, bledošedá
G	Manóza	MNS	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
F	Rafinóza	RAF	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
E	Celobióza	CEL	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
D	Xylóza	XYL	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
C	Arabinóza	ARA	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
B	Sorbitol	SOR	žltá, žltohnedá	fialová, hnedefialová
A	Kontrola rastu	CON		

POUŽITÉ SYMBOLY



Katalógové číslo



In vitro diagnostikum



Výrobca



Čítajte návod k použitiu



Číslo šarže



Teplota skladovania



Dátum expirácie



ANAEROTest 23

**Cat. No.: MLT0001****For microbiology**

The kit ANAEROTest 23 is designed for the routine identification of anaerobic bacteria that are found in clinical material and in food. The kit uses twenty three biochemical tests for identification of bacterial strains. The tests are situated in wells on microtitration plates. A strip containing three rows with eight wells each is designed for the identification of one strain.

The kit ANAEROTest 23 contains:

- 10 microtitration plates (for identification of 4 strains each) with desiccant
- Instructions for use including a differentiation table
- Colour scale for ANAEROTest 23 kit
- 10 polyethylene bags for incubation
- Storage bag (for storage of unused strips), 1 piece
- 40 record sheets
- Lid

Storage, expiration:

The ANAEROTest 23 kit should be stored in a refrigerator at (+2 to +8) °C. The expiration date is indicated on each package.

Recommended instructions for use for ANAEROTest 23

Material required to perform (not included in the kit):

- Suspension medium for ANAEROTest 23 (Cat. No. MLT00024 – 20 determinations)
- Reagent for INDOL test (Cat. No. MLT00020 – 310 determinations)
- Reagent for NITRATE test (Cat. No. MLT00021 – 460 determinations)
- Paraffin oil, sterilized (Cat. No. MLT00042 – 750 determinations)
- Petri dishes with the cultivation medium (Wilkins-Chalgren agar)
- Instrument Densi-La-Meter II (Cat. No.: INS00062)
- Automatic micropipette 0.15 ml, sterile tips
- Thermostat 35–37 °C
- Anaerostat
- Regular microbiological laboratory equipment (loops, markers, burner)

For results evaluation

(not included in the kit):

- Code Book for ANAEROTest 23 - located at www.eralachema.com
- The ErbaExpert Identification Program

Caution:

- For professional use only

Respect the rules for work with infectious material!

Isolation of cultures:

- Perform the isolation of cultures by usual technique on recommended media for anaerobic bacteria (Wilkins-Chalgren agar).
- Perform Gram staining using pure culture and record the microscopic morphology.
- In the case of any doubts, complement the Gram staining by performing the KOH test (3% KOH).
- It is recommended to apply the thermostolerance test (80 °C/15 min.) with gram-positive rods.
- Always carry out a parallel aerobic cultivation.

Preparation of the ANAEROTest 23 plate:

- Open an aluminium bag close to the weld and take out the plate.
- Cut off a required number of strips from the plate.
- Remove the adhesive tape from individual strips and insert them into a prepared frame. If you work with MIKRO-LA-TEST® kit for the first time and an empty frame is not available, use the frame of the first plate. Any unused strips of the first plate insert into a storage bag freely.
- Record numbers of the strains or isolates to be examined on the corresponding strips.
- Insert the rest of the plate strips with desiccant into a storage bag enclosed with the kit. Store it in a refrigerator for further use. Protect the plate against the humidity. It is recommended to use the rest of the plate within 4 weeks after the first use.
- Disinfect the frame in a case of repeated use.

Preparation of inoculum:

- Prepare a suspension from a pure, 48 hours culture in the Suspension Medium for ANAEROtest 23. Homogenize the suspension well.
- The suspension must have a turbidity equal to No. 3 of McFarland turbidity scale.
- To minimize air penetration, keep the ampoule with the suspension medium vertically during homogenization and move the loop along the inner wall of the ampoule

Note:

Any uneven distribution of substrate in the well does not affect the functionality of the test.

Culture purity control:

If required confirm the purity of the suspension by streaking-out a sample from the inoculated suspension medium on cultivation plate. Check the purity before you read results.

Inoculation:

- Homogenize the suspension well using a pipette without taking the pipette tip out of the medium.
- Inoculate 0.15 ml of the suspension into all wells of a strip.
- After inoculation, add 2 drops of the paraffin oil into the well H of the 1st row (tests IND, paraffin oil avoids the indol volatilization).

Note:

- When preparing the inoculum and when performing the inoculation of the ANAEROTest 23 in the open air, it is necessary to proceed as quickly as possible, to maximally reduce the exposure to the air oxygen.

Note: the lid is labelled with abbreviated names of the tests and graphic symbols:

● (add paraffine oil) and ⚭ (add a reagent).

Clean the inside of the lid by ethanole just before the use.

Incubation:

- Insert the frame with inoculated strips into a polyethylene bag.
- Fold the open end of the bag under the plate to prevent evaporation during the incubation.
- Incubate ANAEROTest 23 plate in anaerobic atmosphere for 48 hours at 37°C.
- Always incubate the ANAEROTest 23 with an anaerobic atmosphere indicator.

Reading:

- Check the negative growth on the Petri dish that has been incubated under aerobic conditions.
- Before reading the results add reagents to the following wells:
 - 1st row, well H (test Indol) – 2 drops of the reagent for IND
 - 2nd row, well H (test Nitrate) – 1 drop of the reagent for NIT
- Read the colour reactions of all tests and record the results in the record sheet.

Note:

- The positive reaction in the test Esculin (3rd row, well H) can be more intensive after 3–5 minutes of its air exposure.
- Add small amount of zinc powder (about 0.5 mg) carefully into wells C with negative test for nitrate to confirm negative reaction. In case of a negative reaction, red colour will appear within 10 min.
- Read the reactions in accordance with the table "Interpretation of Reactions", Colour chart for ANAEROTest 23 and/or according to the colour reactions of the control strains.
- If an indicator is reduced in any of the wells with tests for the sugar acidification in columns G–B (without B2 test NAG) and the well is colourless, pale straw-like yellow or pale purple, add one drop of 0.02% solution of bromocresol red (pH 6.8) into the well.
- The well A in the 3rd row does not contain any test and can serve as a growth control. In the case of any doubts (all reactions negative), inoculate the culture out of the well onto a Petri dish with an agar medium and incubate under anaerobic conditions.

Identification:

- According to the microscopy, classify the identified bacteria into one of the four following groups:
 1. Gramnegative rods
 2. Grampositive spore-forming rods
 3. Grampositive non-spore-forming rods
 4. Cocci
- Carry out the identification within the respective group by means of the Identification tables or by using the Code Book, ev. identification software ErbaExpert.
- To complete an identification take into the consideration all the results including additional characteristics available, i.e. morphological characters, source of isolate, results of additional tests, results of pathogenicity tests, toxicity tests etc.
- If you have failed to identify the culture, repeat the procedure as above, eventually use some additional tests.

Note:

- The record sheet is designed to create so called profile easily, i.e. a numerical code enabling to find an identification result within the Code Book. The procedure of the profile formation is described in the Code Book.

Disposal of used material:

- All ampoules, tips and strips must be autoclaved or incinerated after the use.
- Put paper packaging waste to recycling.

Table 1: Gramnegative anaerobic rods

Row 1												Row 2												Identification			
H IND	G GLU	F MLT	D FRU	C GAL	B LAC	A MILZ	H NIT	G SUC	F SAL	D MAN	C RHA	B NAG	A bGL	H ESL	G MNS	F RAF	E CEL	D XYL	C ARA	B SOR	Morphology						
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	d	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Anaerohabdus furcosa				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+ d	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Alistipes putredinis				
+	+	-	d	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	Bacteroides eggertii				
-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Bacteroides fragilis				
+	+	+	+	+	d	-	-	(+)	d	-	+	+	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	Bacteroides ovatus				
+	+	+	+	+	+	d	-	(-)	d	-	+	+	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	Bacteroides thetaiotomicron				
+	+	+	+	+	+	d	-	-	d	-	+	+	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	Bacteroides uniformis				
-	+	+	+	+	+	d	-	-	d	-	+	+	+	+	+	d	+	+	+	-	-	-	Bacteroides vulgatus				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Campylobacter gracilis				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Campylobacter ureolyticus				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Capnocytophaga ochracea				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Dialister pneumosintes				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Fusobact. gonidiformans				
-	-	-	(-)	+	d	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	d	d	(-)	-	-	-	-	Fusobacterium mortiferum				
+	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Fusobacterium necrophorum				
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Fusobacterium nucleatum				
d	+	-	(-)	+	d	+	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	Fusobacterium varium				
-	+	+	+	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	Leptotrichia buccalis				
-	+	+	+	+	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	+	d	+	-	-	-	Mitsuokella multicauda				
-	+	+	+	+	+	d	-	-	d	-	+	+	+	+	d	+	+	(+)	d	-	-	-	Parabacteroides distasonis				
+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Porphyromonas asaccharolytica				
-	+	+	(-)	(-)	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Prevotella bivia				
-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	d	+	+	+	-	-	-	Prevotella buccalis				
(+)	+	(+)	+	-	(-)	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	Prevotella intermedia				
-	(+)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	(+)	+	+	-	-	-	Prevotella melaninogenica				
-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	+	(+)	+	+	-	-	Prevotella oralis				

Table 2: Grampositive anaerobic spore-forming rods

Row 1												Row 2												Morphology				Identification			
H IND	G GLU	F MLT	D FRU	C GAL	B LAC	A MILZ	H NIT	G SUC	F SAL	D MAN	C RAH	B NAG	A bGL	H ESL	G MNS	F RAF	E CEL	D XYL	C ARA	B SOR											
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
-	+	+	+	+	-	-	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	short, thick rods (ST)	Clostridium argentinense			
+	+	-	-	-	-	-	-	-	(-)	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	short, thick rods (ST, T)	Clostridium baratii			
-	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	shorter, thicker rods (C, ST)	Clostridium bifermentans				
-	+	+	-	-	d	-	-	-	d	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	shorter, thick, straight rods (ST)	Clostridium botulinum A				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	short, thick, straight rods (ST)	Clostridium botulinum B				
-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	shorter, thick rods (ST)	Clostridium botulinum C				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	shorter, straight rods with rounded ends (C, ST)	Clostridium butyricum				
-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	longer, slender rods, significant terminal spores (T)	Clostridium butyricum				
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	longer, regular, slender rods, chained in filaments, consisting of 2-6 cells (ST, T)	Clostridium cadaveris				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	longer, regular, slender rods, consisting of 2-6 cells (ST, T)	Clostridium cochlearium				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	longer, shorter, very thick rods (ST)	Clostridium difficile				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	regular, shorter rods (ST, T)	Clostridium glycolicum				
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	longer and shorter, very thick rods (ST)	Clostridium haemolyticum				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	short, straight, thicker rods (C, ST)	Clostridium histolyticum				
-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	shorter, spindle-shaped rods (C, ST)	Clostridium chauvoei				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	long, slender, straight rods (C, ST)	Clostridium innocuum				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	straight, long, thick rods (C, ST)	Clostridium limosum				
-	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	thick, longer rods (C, ST)	Clostridium novyi A				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	longer, straight, thick rods (C, ST)	Clostridium novyi B				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	long, thick rods (T)	Clostridium paraputificum				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	short, thick rods with flat-nose ends (C, ST)	Clostridium perfringens				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	long, straight rods (T)	Clostridium ramosum				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	extremely pleomorphic, long and short rods (ST)	Clostridium septicum				
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	shorter, thicker, straight rods (C, ST)	Clostridium sordellii				
(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	(+)	+ d	+ (+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	longer rods with tapered ends (ST)	Clostridium sphenooides				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	short, straight rods (ST)	Clostridium sporogenes				
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	long, thick rods (ST, C)	Clostridium subterminaliae				
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	long, slender rods (T)	Clostridium tertium				
d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	long, thick rods (T)	Clostridium tetani				

Legend:

T = terminal spores ST = subterminal spores C = central spores

Table 3: Grampositive anaerobic non-spore-forming rods

Table 4: Anaerobic cocci

Row 1												Row 2												Identification		
H IND	G GLU	F MLT	E FRU	D LAC	C MILZ	B LAC	A URE	H NIT	G SUC	F SAL	E MAN	D TRE	C RHA	B NAG	A bGL	H ESL	G MNS	F RAF	E CEL	D XYL	C ARA	B SOR	Morphology			
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	oval cocci in pairs and individually, G-			
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	medium-sized cocci, individually and in clumps			
-	d	-	d	-	-	-	(-)	-	-	d	d	d	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Anaerococcus prevotii			
-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Atopobium minutum			
-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Atopobium parvulum			
-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Blautia hansenii			
-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Blautia producta			
-	+	+	+	-	-	-	(+)	-	-	+ +	+ d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Blautia magna			
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Finegoldia magna			
-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Gemella morbillorum			
-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Megaspheera elsdenii			
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Peptococcus niger			
-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Peptostreptococcus anaerobius			
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Peptoniphilus asaccharolyticus			
-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Parvimonas micra			
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Sarcina ventriculi			
-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Veillonella parvula			

Legend:

- += positive reaction
- = negative reaction

(+) = mostly positive reaction
(-) = mostly negative reaction

d = variable reaction
G- = gramnegative cocci

The most frequent causes of identification failure:

- Contaminated culture.
- Using inoculum of low density or small volume.
- Inoculum has contaminated adjacent strips.
- The indol test was not overlayed by paraffin oil.
- A reagent was dropped into adjacent well.
- Failure to follow the recommended procedure.
- Failure to obtain required parameters of the anaerobic cultivation.
- There may be a species or strains whose data are not included in the "Identification table" or Code book.

Performance:

The kit was tested on a set of 80 clinically important strains.
The identification of all strains was correct.

Quality control of ANAEROtest 23:

The quality control of the kits is performed systematically at various stages of their production. The batches are checked by tests on standard bacterial cultures. For those who wish to perform their own quality control tests, cultures mentioned in the table **Control strains** are recommended. **These strains are used to check the functionality of the kit, not to check the accuracy or success of the identification!**

Lactobacillus rhamnosus CCM 1828 (ATCC 9595)

Clostridium sordellii CCM 4611

Propionibacterium acnes CCM 3343

The strains are supplied in freeze-dried ampoules by: CCM – Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Faculty of Science, Kamenice 5, building A25, 625 00 Brno, CZ, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz.

Control strains

Row	H	G	F	E	D	C	B	A
Lactobacillus rhamnosus CCM 1828 (ATCC 9595)								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	-	+	+	+	+	+	+	-
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	-	+	+	+	+	+	+	+
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	+	+	-	+	-	-	-	x
Clostridium sordellii CCM 4611								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	+	+	+	+	-	-	-	+
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	-	-	-	-	-	-	-	-
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	-	-	-	-	-	-	-	x
Propionibacterium acnes CCM 3343								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	+	+	-	+	-	-	-	-
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	+	-	-	-	-	-	+	-
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	-	+	-	-	-	-	+	x

Notes: + = positive reaction

- = negative reaction

x = growth control

Health protection:

Components of the kit are not classified as dangerous.

Date of revision: 31.1. 2018

ANAEROtest 23

INTERPRETATION OF REACTIONS

Column	Test	Code	Reaction	
			positive	negative
Row 1				
H	Indol	IND	red-to-violet, red, pink	yellowish
G	Glucose	GLU	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
F	Maltose	MLT	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
E	Fructose	FRU	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
D	Galactose	GAL	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
C	Lactose	LAC	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
B	Melezitose	MLZ	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
A	Urease	URE	red-to-violet, red	yellow, pale orange
Row 2				
H	Nitrate	NIT	dark red, red	colourless, rosy
G	Sucrose	SUC	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
F	Salicin	SAL	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
E	Trehalose	TRE	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
D	Mannitol	MAN	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
C	Rhamnose	RHA	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
B	N-acetyl-β-D-glucosaminidase	NAG	yellow	colourless
A	β-glucosidase	bGL	yellow	colourless
Row 3				
H	Esculin	ESL	black, dark brown, dark grey	colourless, pale brown, pale grey
G	Mannose	MNS	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
F	Raffinose	RAF	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
E	Cellobiose	CEL	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
D	Xylose	XYL	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
C	Arabinose	ARA	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
B	Sorbitol	SOR	yellow, yellow-to-brown	violet, brown-to-violet
A	Growth control	CON		

USED SYMBOLS



Catalogue number



In vitro diagnostics



Manufacturer



See instruction for use



Lot number



Storage temperature



Expiry date





АНАЭРОтест 23



Ном. но.: MLT00001

Для микробиологии

Набор АНАЭРОтест 23 предназначен для биохимической идентификации анаэробных бактерий, прежде всего из клинического материала и из пищевых продуктов.

Набор состоит из 10 стрипированых пластмассовых пластинок размером 8,5 x 12,5 см, содержащих 96 ячеек (4 трехрядных стрипа по 24 ячейки) с высушенными питательными средами и субстратами для 23 тестов: индол, глюказа, мальтоза, фруктоза, галактоза, мелецитоза, уреаза, нитраты, сахароза, салицин, трегалоза, маннитол, рамноза, N-ацетил- β -D-глюказаминидаза, β -глюказидаза, эскулин, манноза, раффиноза, целлобиоза, ксилоза, арабиноза и сорбитол.

Набор АНАЭРОтест 23 содержит:

- 10 микротитровальных пластинок (каждая для идентификации 4 штаммов) с силикагелем
- Инструкция для пользователя с Идентификационной таблицей
- Цветная шкала для АНАЭРОтест 23
- Пакет для хранения частично использованной пластиинки
- 10 полиэтиленовых пакетиков для инкубации
- 40 бланков для регистрации результатов
- Крышка

Хранение, срок годности:

АНАЭРОтест 23 следует хранить при температуре от +2 до +8°C. Срок годности указан на каждой упаковке.

Инструкция к постановке АНАЭРОтест 23**Материалы (не входят в набор):**

- Суспензионная среда для АНАЭРОтеста 23 (Ном. номер MLT00024 – 20 определений)
- Реактив для теста ИНДОЛ (Ном. номер MLT00020 – более чем для 310 определений)
- Реактив для теста НИТРАТЫ (Ном. номер MLT00021 – более чем для 460 определений)
- Парафиновое масло, стерильное (Ном. номер MLT00042 – более чем для 750 определений)
- Чашки Петри с культивационной средой
- Прибор Денси-ЛА-Метр II или пробирки с суспензией 3 степени мутности по шкале McFarland (0,3 мл 1% раствора BaCl₂·2H₂O и 9,7 мл 1% раствора H₂SO₄)
- Автоматическая микропипетка 0,15 мл, стерильные наконечники
- Термостат 35–37°C
- Анаэростат
- Индикатор анаэробной атмосферы
- Традиционное оснащение микробиологической лаборатории (петли, маркеры, горелка)

Пособия для идентификации (не входят в набор):

- Книга кодов для АНАЭРОтест 23 - расположена по адресу www.erkalachema.com (раздел Микробиология)
- Программа идентификации ErbaExpert.

Предупреждение:

- Набор предназначен только для квалифицированного использования в микробиологической лаборатории.

**Строго соблюдать правила работы
с инфицированным материалом!**

Выделение культуры:

- Выделите чистую культуру, пользуясь средами, рекомендуемыми для изоляции и культивации анаэробных бактерий, напр. Wilkins-Chalgren агар.
- Проведите микроскопию чистой культуры с окраской по Граму и учтите морфологию (форму и агрегацию клеток, спорообразование).
- Окраску по Граму в сомнительных случаях можно дополнить тестом КОН (3% КОН).
- Грамположительные палочки рекомендуется проверить на терморезистентность (80°C/15 мин).
- Для контроля следует провести культивацию каждого штамма в аэробных условиях.

Подготовка стрипированных пластинок:

- Откройте алюминиевую упаковку по сварному шву.
- Достаньте пластиинку из алюминиевого пакета.
- Возьмите необходимое количество стрипов из пластиинки (1 трех рядный стрип, т.е. 24 теста, на одну культуру).
- Удалите адгезивную пленку с индивидуальных стрипов, вставьте их в подготовленную рамку. В том случае, если Вы работаете с набором Микро-Ла-Тест® впервые, и у Вас нет свободной рамки, используйте рамку первой пластиинки. Неиспользованные стрипы из первой пластиинки поместите в пакет для хранения неиспользованных пластиинок.
- Напишите номера штаммов на соответствующие стрипы.



- Остаток неиспользованных стрипов с силикагелем поместите в алюминиевый пакет для частично использованных пластинок и положите в холодильник для последующего использования; пластинку необходимо предохранять от влаги. Не рекомендуется хранить пластинку более 4 недель с момента ее вскрытия.
- Рамку с крышкой дезинфицируйте после каждого употребления.

Примечание:

неравномерное распределение субстрата в лунке не влияет на функциональность теста.

Приготовление бактериальной суспензии:

- Из чистой 48 часовой культуры приготовьте суспензию в суспензионной среде для АНАЭРОтеста 23.
- Тщательно гомогенизируйте суспензию.
- Мутность суспензии должна соответствовать 3 степени мутности по шкале McFarland. Более жидкая или более густая суспензия может привести к ложным реакциям.
- При гомогенизации ампулу держите в вертикальном положении и двигайте петлей по ее внутренней поверхности, предупреждая попадание воздуха в суспензионную среду.
- Параллельно сделайте посев суспензии культуры для проверки чистоты культуры, ее ростовых свойств (в аэробных и анаэробных условиях) и/или для постановки дополнительных тестов.

Инокуляция:

- Суспензию бактерий в суспензионной среде тщательно гомогенизируйте при помощи микропипетки, предупреждая попадание воздуха в суспензионную среду.
- Инокулируйте по 0,15 мл суспензии во все лунки в соответствующих трех рядах пластиинки.
- После инокуляции добавьте в лунки Н первого ряда (тест IND) по 2 капли парафинового масла.

Примечание:

- В случае подготовки инокулята и инокуляции АНАЭРОтест 23 на воздухе необходимо работать по возможности быстрее, чтобы максимально сократить время экспозиции культуры при воздействии кислорода воздуха.

Примечание:

Крышка пластиинки имеет сокращенные названия тестов и символы:

- добавить (парафиновое масло) и Δ (реактив)

Если Вы используете крышку для накрытия пластиинки, продезинфицируйте ее внутреннюю сторону спиртом.

Инкубация:

- После инокуляции закройте пластиинку крышкой или предохранительной пленкой.
- Вложите пластиинку в пакет из полиэтилена, открытый конец пакета загните под пластиинку, чтобы инокулят не высыпал при инкубации.
- Инкубируйте инокулированную пластиинку классическим методом в анаэробных условиях (80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂) в течение 48 часов при температуре 37 °C.
- АНАЭРОтест 23 всегда инкубируйте с индикатором анаэробной атмосферы.

Учет результата:

- После 48 часовой инкубации:
 - Проверьте наличие роста на чашке Петри, инкубированной в аэробных условиях.
 - Проверьте чистоту культуры на контрольной чашке Петри, инкубированной в анаэробных условиях.
 - Учтите реакции на пластиинке АНАЭРОтест 23:
 - Добавьте реактивы в следующие лунки:
 - 1-ый ряд, лунка Н (тест IND) – 2 капли Реактива для теста ИНДОЛ,
 - 2-ой ряд, лунка Н (тест NIT) – 1 капля Реактива для теста НИТРАТЫ.
 - Учтите результаты всех реакций АНАЭРОтест 23 и занесите в бланки.

Примечание:

- Окрашивание при положительной реакции гидролиза эскулина становится более интенсивным через 3–5 минут экспозиции пластиинки на воздухе.
- В лунки С с отрицательной реакцией на нитраты добавьте осторожно небольшое количество порошка цинка (приблизительно 5 мг) для подтверждения отрицательной реакции, при отрицательной реакции красный цвет появляется в течение 10 минут.
- При оценке АНАЭРОтест 23 ориентируйтесь по таблице «Интерпретация реакций», Цветной шкале сравнения и/или по цветным реакциям контрольных штаммов.
- В случае редукции индикатора в тестах на ацидификацию сахаров (в колонках G–B реакция бесцветная, соломенно-желтая, светло-пурпурная), добавьте в лунки 1 каплю 0,02%-ного раствора бромкрезола пурпурного (pH 6,8).
- Лунка А в 3-ем ряду не содержит никакого теста и служит для контроля роста. В случае сомнения (все реакции отрицательные) инокулируйте культуру из лунки на чашку Петри и инкубируйте в анаэробных условиях.

Идентификация:

- По результатам окраски по Граму и микроскопии отнесите идентифицируемую анаэробную бактерию в одну из четырех групп:
 1. грамотрицательные палочки
 2. грамположительные спорообразующие палочки
 3. грамположительные неспорообразующие палочки
 4. Кокки.
- Идентификацию в соответствующей группе проводите с помощью «Идентификационной таблицы» или пользуясь Книгой кодов для набора АНАЭРОтест 23, или же при помощи компьютерных программ «Система микробиологического мониторинга «Микроб 2» со

Таблица 1: Грамотрицательные анаэробные палочки

Грамположительные анаэробные спорообразующие палочки

Пояснения: Т = споры терминальные СТ = споры субтерминальные С = споры центральные

Таблица 3: Грамположительные анаэробные неспорообразующие палочки

	Ряд 1												Ряд 2												Идентификация
	H IND	G MLT	F GLU	D LAC	C MLZ	B LAC	A URE	H NIT	G SUC	F SAL	E MAN	D TRE	C RAF	B CEL	A bGL	H ESL	G MNS	F RAF	E CEL	D XYL	C ARA	B SOR			
-	+	+	+	+	(+)	(-)	-	(+)	+	(+)	d	(+)	(-)	-	+	(+)	d	(+)	(+)	d	d	d	Morpha		
-	+	(+)	+	+	(+)	(-)	+	(+)	+	d	d	(-)	(-)	-	+	(-)	(+)	+	d	-	-	-	Actinomyces israelii		
-	+	(+)	+	+	(+)	(-)	-	+	d	d	d	-	(-)	-	-	(-)	d	-	-	-	-	-	Actinomyces naeslundii		
-	+	(+)	+	+	(+)	(-)	-	+	d	d	d	-	(-)	-	-	(-)	d	-	-	-	-	-	Actinomyces odontolyticus		
-	+	+	+	+	+	-	-	-	+ d	- d	- d	- d	- d	- d	- d	- d	- d	- d	- d	- d	- d	- d	Bifidobacterium breve		
-	+	+	+	+	+	d	-	-	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	Bifidobacterium dentium		
-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Bifidobacterium longum susp.		
-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	longum		
-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Collinsella aerofaciens		
-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Eubacterium contortum		
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Eggerthella lenta		
-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Krusea		
-	+	+	d	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Eubacterium limosum		
(+)	+	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	очень длинные, удлиненные, узкие палочки		
-	+	+	d	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	короткие, толстые палочки		
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Eubacterium saburreum		
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Eubacterium tenuie		
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Eubacterium tortosum		
-	+	d	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Lactobacillus catenaformis		
-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Pseudoramibacter		
(+)	+	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	alactolyticus		
-	+	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Propionibacterium acnes		
-	+	+	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Propionibacterium acnes		
-	+	+	d	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Propionibacterium granulosum		
-	+	+	d	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Propionibacterium propionicum		

Таблица 4: Анаэробные кокки

Пояснени:

+	= положительная реакция
-	= отрицательная реакция

- (+) = большей частью положительная реакция
- (-) = большей частью отрицательная реакция

d = вариабильная реакция
G- = грамотрицательные кокки

встроенной «Идентификацией» и «Микроб-Автомат».

- При окончательной идентификации следует учитывать всю дополнительную информацию (источник выделения, характер колоний, микроскопию, результаты тестов на патогенность и токсикогенность и другие характеристики).
- Если культуру не удается идентифицировать, следует повторить АНАЭРОтест 23 или же дополнить идентификацию, используя другие тесты.

Примечание:

- Для идентификации при помощи Книги кодов, бланк для регистрации результатов позволяет легко получить так называемый профиль, т. е. цифровой код, по которому можно найти результат идентификации в Книге кодов. Расчет профиля описан в Книге кодов.

Дезинфекция:

После употребления микротестсистемы обеззараживаются в дезинфицирующем растворе либо автоклавируются.

Наиболее частые причины неудач при идентификации:

- Смешанная культура.
- Использование супензий с недостаточной мутностью или в недостаточном объеме.
- Перекрестная контаминация супензий в расположенных рядом лунках.
- Соответствующие лунки не заполнены парафиновым маслом.
- Попадание реактивов в лунки соседнего ряда.
- Не точно соблюдена методика постановки теста.
- Недостижение анаэробной атмосферы при культивации.
- Возможно выделение штамма с нетипичными свойствами или его данные не заложены в таблицы.

Свойства:

Набор был тестирован на 80 клинических важных штаммах.

Все были идентифицированы правильно.

Контроль качества:

Химический контроль качества реактивов, используемых при производстве АНАЭРОтест 23, осуществляется стандартными методами. Производственные партии пластинок контролируются с помощью контрольных референтных бактериальных культур. Для работы с пластинками АНАЭРОтест 23 в лаборатории рекомандуем использовать следующие контрольные штаммы (показаны в таблице **Контрольные штаммы**). Для контроля функциональности набора необходимо всегда пользоваться свежими изолятами штаммов. **Данные штаммы служат для контроля функциональности набора, а не для контроля идентификации!**

- Lactobacillus rhamnosus* CCM 1828 (ATCC 9595)
- Clostridium sordellii* CCM 4611
- Propionibacterium acnes* CCM 3343

CCM - Чешская коллекция микроорганизмов

ГИСК, Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича, г. Москва, телефон 8 (499) 241-31-19 **Контрольные штаммы**

Ряд	H	G	F	E	D	C	B	A
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> CCM 1828 (ATCC 9595)								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	-	+	+	+	+	+	+	-
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	-	+	+	+	+	+	+	+
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	+	+	-	+	-	-	-	x
<i>Clostridium sordellii</i> CCM 4611								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	+	+	+	+	-	-	-	+
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	-	-	-	-	-	-	-	-
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	-	-	-	-	-	-	-	x
<i>Propionibacterium acnes</i> CCM 3343								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	+	+	-	+	-	-	-	-
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	+	-	-	-	-	-	+	-
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	-	+	-	-	-	-	+	x

Пояснения: + = положительная реакция

- = отрицательная реакция

x = контроль роста культуры

Меры предосторожности:

Набор реагентов не относится к категории опасных.

Дата проведения контроля: 23. 5. 2019

АНАЭРОтест 23

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕАКЦИЙ

Колонка	Тест	Код	Реакция	
			положительная	отрицательная
Ряд 1				
H	Индол	IND	красно-фиолетовая, красная, розовая	желтоватая
G	Глюкоза	GLU	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
F	Мальтоза	MLT	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
E	Фруктоза	FRU	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
D	Галактоза	GAL	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
C	Лактоза	LAC	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
B	Мелецитоза	MLZ	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
A	Уреаза	URE	красно-фиолетовая, красная	желтая, светло-оранжевая
Ряд 2				
H	Нитраты	NIT	темно-красная, красная	бесцветная, розовая
G	Сахароза	SUC	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
F	Салицин	SAL	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
E	Трегалоза	TRE	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
D	Маннитол	MAN	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
C	Рамноза	RHA	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
B	N-Ацетил-β-D-глюказамиnidаза	NAG	желтая	бесцветная
A	β-Глюказидаза	bGL	желтая	бесцветная
Ряд 3				
H	Эскулин	ESL	черная, темно-коричневая, темно-серая	бесцветная, светло-коричневая, светло-серая
G	Манноза	MNS	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
F	Раффиноза	RAF	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
E	Целлобиоза	CEL	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
D	Ксилоза	XYL	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
C	Арабиноза	ARA	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
B	Сорбитол	SOR	желтая, желто-коричневая	фиолетовая, коричнево-фиолетовая
A	Контроль роста	CON		

Артикул	Наименование как в РУ	Номер РУ	Дата выдачи РУ
MLT00001	АНАЭРОтест 23 - определение анаэробных бактерий	ФСЗ 2010/07333	от 30.06.2010

Используемые символы

REF Номер каталога

IVD Ин витро диагностика

LOT Номер партии

Производитель

Срок годности

Температура хранения

Перед использованием
Внимательно изучайте инструкцию



ANAEROTest 23



Nr kat.: MLT00001

Do celów mikrobiologicznych

Zestaw ANAEROTest 23 przeznaczony jest do rutynowej identyfikacji bakterii beztlenowych spotykanych w materiale klinicznym i artykułach spożywczych. Zestaw pozwala na identyfikację 40 szczepów, każdy za pomocą 23 testów biochemicznych. Testy umieszczone są w wgłębeniach na płytach do mikromiareczkowania, po trzy rzędy z ośmioma wgłębeniami do identyfikacji jednego szczepu.

- Zestaw ANAEROTest 23 zawiera:**
- 10 paneli identyfikacyjnych (każdy do identyfikacji 4 szczepów) z wysuszaczem
 - Instrukcję obsługi wraz z tabelą identyfikacyjną
 - Porównawczą skalę barw do ANAEROTest 23
 - 10 PE torebek do inkubacji
 - Torebkę do przechowywania przeznaczoną do ułożenia niezużytej reszty płytki, 1szt.
 - 40 formularzy do wpisywania wyników
 - Pokrywę

Przechowywanie, termin ważności:

Zestaw ANAEROTest 23 należy przechowywać w lodówce w temperaturze +2 do +8°C. Termin ważności podany jest na każdym opakowaniu.

Zalecany sposób postępowania dla ANAEROTest 23

**Materiały potrzebne do pracy z zestawem ANAEROTest 23,
które nie wchodzą w skład zestawu:**

- Nośnik zawiesiny do ANAEROTest 23, nr kat. MLT00024 – 20 oznaczeń/op.
- Odczynnik do testu INDOL, nr kat. MLT00020 – 310 oznaczeń/op.
- Odczynnik do testu AZOTANY, nr kat. MLT00021 – 460 oznaczeń/op.
- Sterylizowany olej parafinowy, nr kat. MLT00042 – 750 oznaczeń/op.
- Szalki Petriego z pożywką hodowlaną
- Urządzenie Densi-La-Meter II, nr kat. INS00062
- Automatyczna mikropipeta 0,1 ml, sterylne końcówki
- Urządzenie do hodowli w warunkach beztlenowych (anaerostat)
- Wskaźnik atmosfery beztlenowej
- Cieplarka 35–37°C
- Podstawowe wyposażenie laboratorium mikrobiologicznego (ezy, markery, palnik)

**Niezbędne pomoce identyfikacyjne,
które nie wchodzą w skład zestawu:**

- Księga kodów do ANAEROTest 23 - znajduje się na stronie www.eralachema.com (sekcja poświęcona mikrobiologii)
- Program identyfikacyjny ErbaExpert
- Zestaw przeznaczony jest do profesjonalnego zastosowania

Przestrzegaj zasad pracy z materiałem zakaźnym

Izolowanie kultury:

- Izolowanie kultury powinno zostać przeprowadzone tradycyjną techniką na podłożu zalecanym do izolowania i hodowli bakterii beztlenowych (agar Wilkins-Chalgren).
- Przeprowadzić barwienie metodą Grama stosując czystą kulturę, zapisać wynik morfologii mikroskopowej (kształt, zgrupowanie komórek, wytwarzanie przetrwalników)
- Barwienie metodą Grama w przypadku niejasności można uzupełnić testem KOH (3% KOH).
- Zaleca się przeprowadzenie testu na termoodporność (80 °C/15 min.) w przypadku pałeczek Gram-dodatnich.
- Równolegle przeprowadzić inkubację w warunkach tlenowych.

**Przygotowanie panelu zestawu
ANAEROTest 23:**

- Przygotować pustą ramkę z pokrywą.
- Otworzyć ALU torebkę poprzez odcięcie brzegu torebki obok miejsca spawu oraz wyjąć płytę.
- Przy pomocy skalpela należy odciąć odpowiednią ilość pasków płytki, zgodnie z ilością badanych szczepów (3 rzędy, tj. 24 studzienek do identyfikacji jednego szczepu).
- Odcięte paski należy wyjąć z panelu, zdjąć ochronną ALU folię, paski włożyć do pustej ramki. W przypadku pracy z zestawem MIKROLATEST® po raz pierwszy i niedysponowaniem wolną ramką, należy wyjąć niezużyte studzienki z pierwszej pełnej ramki, ułożyć luzem w torebce do przechowywania a ramkę tej pierwszej płytki wykorzystać do inkubacji.
- Wpisać nr badanych kultur na odpowiednie paski.
- Resztę niezużytej płytki z wysuszaczem włożyć do dołączonej ALU torebki przeznaczonej do włożenia niezużytej płytki i następnie włożyć do lodówki do kolejnego użycia; płytę należy chronić przed wilgocią. Zalecamy zużyć płytę do 4 tygodni od pierwszego zastosowania.



Przygotowanie inoculum:

- Sporządzić zawiesinę wykorzystując nośnik zawiesiny do ANAEROTest 23, z czystej 48-godzinnej hodowli. Dokładnie zhomogenizować zawiesinę.
- Zmętnienie zawesiny powinno być równe 3 w skali zmętnieniowej McFarlanda. Inokulum o niższej lub większej gęstości może powodować fałszywe reakcje.
- Podczas homogenizacji trzymać próbówkę pionowo i przesuwać eżę wzdłuż wewnętrznej ściany ampułki w celu zmniejszenia penetracji powietrza.

Uwaga:

Ewentualne nierównomierne rozmieszczenie substratu w studzience nie ma wpływu na działanie testu. W przypadku sprawdzenia czystości inoculum należy użyć tą samą eżę, którą przeprowadzono wysiew krzyżowy. Czystość kultury należy oceniać przed odczytem wyników testów.

Sprawdzenie czystości inoculum:**Inokulacja:**

- Przed wykonaniem posiewu należy przy pomocy mikropipety kilkakrotnie wciągnąć i wypuścić zawesinę (nie wyjmować końcówki mikropipety z zawesiny) dla uzyskania całkowitej jednorodności.
- Inokulować 0,15 ml zawesiny do wszystkich wgłębień w trzech rzędach na płytce.
- Następnie nanieść 2 krople oleju parafinowego do wgłębiania H w pierwszym rzędzie paska (test INDOL, olej parafinowy zapobiega ulatnianiu się indolu w przypadku dodatniej reakcji).
- Podczas inokulacji należy zachować ostrożność, żeby nie doszło do kontaminacji sąsiednich studzinek.

Uwaga:

- Podczas zastosowania nowej serii płyt ANAEROTest 23 należy jednocześnie posiąć szczepy kontrolne celem sprawdzenia dodatnich oraz ujemnych reakcji barwnych
- Podczas przygotowywania inoculum i podczas wykonywania posiewu w warunkach tlenowych należy pracować jak najszybciej, aby skrócić do minimum czas ekspozycji kultury na tlen atmosferyczny.

Uwaga:

Pokrywa ramki płytki zawiera nadruk skrótów testów i symboli:

- (zakropić olejem parafinowym) i Δ (dodać odczynnik).

W przypadku wykorzystywania pokrywy w trakcie pracy do nakrycia płytki, należy przed zastosowaniem wewnętrzną stronę pokrywy zdezynfekować etanolem.

Inkubacja:

- Umieścić ramkę z paskami w torebce z polietylenu.
- Założyć otwarty brzeg torebki pod płytke, aby zapobiec wysychaniu podczas inkubacji.
- Inkubować płytę ANAEROTest 23 w 37 °C przez 48 godzin w atmosferze beztlenowej (80% N₂, 10% H₂, 10% CO₂)
- Zawsze inkubować ANAEROTest 23 ze wskaźnikiem atmosfery beztlenowej.

Ocena:

Po upływie 48 godzin inkubacji przeprowadzić ocenę reakcji:

- Sprawdzić ujemny wzrost na szalce Petriego inkubowanej w warunkach beztlenowych
- Na płytce ANAEROTest 23 zakropić odczynniki do następujących studzinek:
 - 1 rząd, wgłebienie H (test INDOL) – 2 krople odczynnika do IND
 - 2 rząd, wgłebienie H (test AZOTANY) – 1 kropla odczynnika do NIT
 - Odczytać reakcje barwne wszystkich testów i zapisać wyniki do arkuszy

Uwaga:

- Reakcja dodatnia w teście ESKULINA (3 rząd, wgłebienie H) może być bardziej intensywna po 3-5 minutach kontaktu z powietrzem.
- Do studzinek z testem AZOTANY z wynikiem ujemnym reakcji zaleca się dodać sproszkowany cynk (ok. 0,5 mg cynku); w przypadku ujemnej reakcji w ciągu 10 min powstaje czerwone zabarwienie (obecny azotan przy pomocy cynku zostaje zredukowany do azotynu, który reaguje wraz z odczynnikiem przy jednoczesnym powstaniu czerwonego zabarwienia).
- W celu prawidłowej oceny reakcji barwnych należy stosować tabelę „Interpretacja reakcji”, Porównawczą skalę barw dla ANAEROTest 23 i/lub wykorzystać reakcję barwne szczepów kontrolnych.
- W przypadku redukcji wskaźnika w studzienkach z testami na zakwaszanie cukrów (w kolumnach G-B; z wyjątkiem B2test NAG; wgłebienie bezbarwne, jasnosłomkowe, jasnopurpurowe) dodać do studzinki jedną kroplę 0,02% roztworu purpury bromokreozolowej (pH 6,8).
- Wgłebienie A w trzecim rzędzie nie zawiera żadnej próby i służy do kontroli wzrostu. W razie wątpliwości (wszystkie reakcje ujemne) posiąć kulturę z wgłebienia na szalce Petriego z pożywką agarową i inkubować w warunkach beztlenowych.

Identyfikacja:

- Na podstawie badania mikroskopowego zaklasyfikować najpierw bakterie beztlenowe do jednej z czterech grup:
 1. Pałeczki Gram-ujemne
 2. Pałeczki Gram-dodatnie wytwarzające przetrwalniki
 3. Pałeczki Gram-dodatnie nie wytwarzające przetrwalników
 4. Ziarniaki
- W przypadku identyfikacji wewnętrz danej grupy korzystać z Tabeli identyfikacyjnej lub Książki kodów, ewent. przeprowadzić identyfikację w komputerze, stosując odpowiedni program do identyfikacji (ErbaExpert).
- Podczas identyfikacji należy uwzględnić wszystkie wyniki, a także inne cechy charakterystyczne, takie jak właściwości morfologiczne, pochodzenie izolatu, wyniki dodatkowych prób, wyniki testów na patogenność, testów na toksyczność itd.
- W razie niepowodzenia w identyfikacji powtórzyć powyższą procedurę, ewentualnie uzupełnić identyfikację dodatkowymi testami.

Tabela 1: Gram-ujemne pałeczki beztlenowe

Tabela 2: Gram-dodatnie beztlenowe pączki wytwarzające formy przetrwalińcowe

Objasnenia: T = endospory umieszczone terminalnie, ST = endospory umieszczone subterminalnie, C = endospory umieszczone centralnie

Tabela 3: Gram-dodatnie beztlenowe paleczki nie wytworzące przetrwaliników

Tabela 4: Ziarenkowce beztlenowe

Rząd 1												Rząd 2												Identyfikacja			
H IND	G GLU	F MLT	E FRU	D C	C LAC	B MLZ	A URE	H NIT	G SUC	F SAL	E TRE	D MAN	C RAH	B NAG	A bGL	H ESL	G MNS	F RAF	E CEL	D XYL	C ARA	B SOR					
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
-	d	-	d	-	-	-	-	(-)	-	-	-	d	d	d	-	-	-	-	-	-	-	-					
-	+	+	+	+	-	-	-	+	d	-	-	-	-	-	-	+	d	-	+	d	-	-					
-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
-	+	+	+	+	+	(+)	-	-	+	+	+	d	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+					
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	(-)	-	(+)	-	(-)	-	-					
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
+ -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
+ -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
- +	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
- -	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					

Objaśnienia:

- + = reakcja dodatnia
- = reakcja ujemna

(+) = reakcja przeważnie dodatnia
 (-) = reakcja przeważnie ujemna

d = reakcja zmienna
G- = ziarenkowce Gram-ujemne

Likwidacja zużytych materiałów: • Wykorzystane ampułki, końcówki i paski należy wsterylizować w autoklawie lub spalić.
• Puste papierowe opakowania przekazać do recyklingu.

Najczęściej spotykane przyczyny niepowodzenia identyfikacji:

- Zanieczyszczona kultura.
- Zastosowano inkolulum o niewielkiej gęstości lub małą ilość inkolulum.
- Inkolulum kontaminowało sąsiadujące paski.
- Test INDOL nie został pokryty warstwą oleju parafinowego.
- Wkropiono odczynnik do sąsiadujących wgłębień.
- Nieprzestrzeganie kolejnych etapów zalecanej procedury.
- Nieprzestrzeganie parametrów hodowli beztlenowej.
- Nietypowy szczep lub przedstawiciel gatunku, który nie jest zawarty w Tabelach identyfikacyjnych.

Właściwości zestawu: Zestaw został przetestowany z pomocą 80 klinicznie istotnych szczepów. Wszystkie szczepy zidentyfikowano prawidłowo.

Kontrola jakości ANAEROTest 23: Jakość chemikaliów stosowanych do produkcji płyt ANAEROTest 23 sprawdzana jest przy użyciu standardowego sposobu testowania. Wyprodukowane partie płyt sprawdzane są także za pomocą standardowych referencyjnych kultur bakteryjnych. Do pracy z płytami ANAEROTest 23 w Państwa laboratorium zalecamy zastosowanie szczepów kontrolnych wymienionych w tabeli Szczepy kontrolne. Także w celach rutynowej diagnostyki zalecamy zastosowanie tych standardowych szczepów kontrolnych do sprawdzenia prawidłowości sposobu postępowania, przebiegu testów i wyrażenia reakcji barwnych. Użycie szczepów kontrolnych zalecane jest w przypadku każdej nowej serii zestawu oraz zgodnie z systemem walidacji laboratorium. Do kontroli funkcjonalności zestawu niezbędne są świeże izolaty szczepów kontrolnych. **Uwaga – szczepy te służą wyłącznie do kontroli funkcjonalności zestawu, nie służą do kontroli prawidłowości lub powodzenia identyfikacji!**

Lactobacillus rhamnosus CCM 1828 (ATCC 9595)

Clostridium sordellii CCM 4611

Propionibacterium acnes CCM 3343

CCM – Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Faculty of Science, Kamenice 5, building A25, 625 00 Brno, CZ, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz.

Szczepy kontrolne

Rząd	H	G	F	E	D	C	B	A
Lactobacillus rhamnosus CCM 1828 (ATCC 9595)								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	–	+	+	+	+	+	+	–
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	–	+	+	+	+	+	+	+
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	+	+	–	+	–	–	–	x
Clostridium sordellii CCM 4611								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	+	+	+	+	–	–	–	+
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	–	–	–	–	–	–	–	–
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	–	–	–	–	–	–	–	x
Propionibacterium acnes CCM 3343								
1	IND	GLU	MLT	FRU	GAL	LAC	MLZ	URE
	+	+	–	+	–	–	–	–
2	NIT	SUC	SAL	TRE	MAN	RHA	NAG	bGL
	+	–	–	–	–	–	+	–
3	ESL	MNS	RAF	CEL	XYL	ARA	SOR	CON
	–	+	–	–	–	–	+	x

Objaśnienia: + = reakcja dodatnia

– = reakcja ujemna

x = kontrola wzrostu

Ochrona zdrowia: Odczynniki zestawu nie są klasyfikowane jako niebezpieczne.

WYTWÓRCA: Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 BRNO, REPUBLIKA CZEWSKA

PRZEDSTAWICIELSTWO w POLSCE: ERBA POLSKA Sp. z o.o., WDC ul. Szyszkowa 35/37, 02-285 Warszawa, tel.: +48 510 251 115, +48 228 783 150, fax: +48 228 783 150, e-mail: erbapolska@erbamannheim.com

Data rewizji: 23. 5. 2019

ANAEROTest 23

INTERPRETACJA REAKCJI

Kolumna	Test	Skrót	Reakcja	
			dodatnia	ujemna
Rząd 1				
H	Indol	IND	Czerwono-fioletowa, czerwona, różowa	Nażółtła
G	Glukoza	GLU	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
F	Maltoza	MLT	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
E	Fruktoza	FRU	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
D	Galaktoza	GAL	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
C	Laktoza	LAC	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
B	Melezitoza	MLZ	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
A	Ureaza	URE	Czerwono-filetowa, czerwona	Żółta, blado-pomarańczowa
Rząd 2				
H	Azotany	NIT	Ciemno-czerwona, czerwona	Bezbarwna, blado-różowa
G	Sacharoza	SUC	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
F	Salicyna	SAL	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
E	Trehaloza	TRE	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
D	Manitol	MAN	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
C	Ramnoza	RHA	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
B	N-acetyl-β-glukozamidaza	NAG	Żółta	Bezbarwna
A	β-glukozydaza	bGL	Żółta	Bezbarwna
Rząd 3				
H	Eskulina	ESL	Czarna, ciemno-brązowa, ciemno-szara	Bezbarwna, blado-brązowa, blado-szara
G	Mannoza	MNS	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
F	Raffinoza	RAF	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
E	Cellbioza	CEL	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
D	Ksyloza	XYL	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
C	Arabinoza	ARA	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
B	Sorbitol	SOR	Żółta, żółto-brązowa	Fioletowa, brązowo-fioletowa
A	Kontrola wzrostu	CON		

UŻYTE SYMBOLE

REF Numer Katalogowy

IVD Urządzenie Diagnostyczne in Vitro

Producent

Patrz: Instrukcja Użycia

LOT Numer Partii

Temperatury Graniczne

Termin Ważności