

SYMBOL LEGEND

	Catalogue Number
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device
	Batch Code (Lot Number)
	Temperature Limitations (Storage temp.)
	Use By (Expiration Date)
	Do Not Reuse
	Consult Instructions for Use (IFU)
	Do not use if package is damaged
	Contains sufficient for <n> tests
	Manufactured by
	European Authorised Representative
	UK Conformity Assessed
	CE Mark



IFU X5916C 2022-09-05 Printed in the UK

 Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK

For technical assistance please contact your local distributor.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.

ATCC and ATCC catalogue marks are a trademark of American Type Culture Collection.

All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.



Kód klíče TSMX5916C
www.thermofisher.com

Evropa +800 135 79 135 USA 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 Ostatní země: +31 20 794 7071

Oxoid™ Biochemical Identification System (O.B.I.S.) PYR



REF ID0580M.....▽60

ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

O.B.I.S. PYR je rychlý, kvalitativní, kolorimetrický test k detekci aktivity PYRázy u streptokoků a druhu *Citrobacter* spp. pěstovaných na kultivačním médiu. Používá se v diagnostickém pracovním postupu, kde lékařům napomáhá při určování potenciálních možností léčby pro pacienty s bakteriální infekcí.

Prostředek není automatizován, je určen pouze pro profesionální použití a není určen pro doprovodnou diagnostiku.

PRINCIP TESTU

Aktivita PYRázy odlišuje streptokoky skupiny A a enterokoky od ostatních skupin streptokoků včetně streptokoků skupiny D (dříve nazývaných fekální streptokoky)^{1,2}, a nabízí tak rychlou diagnostickou alternativu k časově náročným kultivačním metodám. Kromě toho lze stejnou enzymatickou aktivitu použít k diferenciaci druhu *Salmonella* spp. od druhu *Citrobacter* spp. a jiných Enterobacteriaceae^{3,4}.

Některé PYRázové testy obsahují další chromogenní substráty, jako jsou β-nafthylamidy. Ty poskytují podobný diagnostický výkon, ale mělo by se s nimi zacházet a likvidovat je opatrně z důvodu jejich potenciální toxicity⁵.

O.B.I.S. Test PYR používá testovací karty impregnované kyselinou L-pyroglutamovou 7-amido-4-metylkumarinem a vyvíjecím roztokem obsahující dimethylaminocinnamaldehyd. Enzymatická hydrolyza tohoto substrátu prostřednictvím enterokoků, streptokoků skupiny A a druhu *Citrobacter* spp. vytváří po přidání vyvíjecího roztoku PYR fialové zbarvení⁶.

SOUČÁSTI SOUPRAVY (ID0580M)

Každá souprava O.B.I.S. PYR obsahuje následující reagentie dostačující pro 60 testů:

- ID0581M** Testovací karty PYR: 1 váček obsahující 10 karet a sáček absorbující vlhkost. Na každé kartě se nachází 6 testovacích reakčních oblastí. Celkem tedy 60 testů. Každá testovací karta je impregnována 7-amido-4-metylkumarinem kyseliny L-pyroglutamové.
- ID0200M** Vyvíjecí roztok PYR – 1 lahvička s kapátkem obsahující 7 ml 1M kyseliny chlorovodíkové a 0,5 % w/v dimethylaminocinnamaldehydu
- ID0100M** Pufr – 1 lahvička s kapátkem obsahující 7 ml PBS (fyziologický roztok pufrovaný fosfátem)

Návod k použití (IFU)

Potřebný, ale nedodávaný materiál

Plastové mikrobiologické inokulační klíčky

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Tento produkt je určen pouze pro diagnostické použití *in vitro*.

Nepoužívejte reagentie O.B.I.S. PYR po uplynutí doby použitelnosti.

Materiál vzorků může obsahovat patogenní organizmy, zacházejte s ním s náležitými opatřeními.

Vyvíjecí roztok PYR (ID0200M) obsahuje slabou kyselinu. Vyhněte se přímému kontaktu používáním vhodných ochranných prostředků. Při styku materiálu s kůží, sliznicemi nebo očima okamžitě omyjte místo opláchnutím velkým množstvím vody. Použité testovací karty a inokulační klíčky musí být zlikvidovány jako biologicky nebezpečný odpad a spalovány nebo autoklávovány po dobu 15 minut při teplotě 121 °C.

Informace o potenciálně nebezpečných složkách naleznete v bezpečnostním listu (SDS) na webových stránkách společnosti a na označení produktu.

Prostudujte si návod a přesně ho dodržujte.

Každá závažná událost, ke které došlo v souvislosti s prostředkem, se musí nahlásit výrobci a příslušnému orgánu členského státu, v jehož působnosti uživatel anebo pacient sídlí.

V případě poškození prostředek nepoužívejte.

SKLADOVÁNÍ A OTEVÍRÁNÍ

Tato souprava musí být skladována při teplotě 2–8 °C. Před otevřením nechte váčky dosáhnout pokojové teploty, abyste zabránili tvorbě kondenzace na testovacích kartách.

Váčky otevřete přestřížením nůžkami mezi těsněním na konci sáčku a uzávěrem zipu.

Po otevření vyjměte počet testovacích karet potřebný pro testování během následujících 10 minut a váček neprodleně znovu uzavřete. Je-li zapotřebí menší počet testů, rozstříhnete testovací kartu a nepoužité části vraťte do váčku. Použité části do váčku nevracejte, jelikož by za těchto podmínek došlo ke kontaminaci.

Při skladování podle pokynů si reagentie zachovávají svou aktivitu až do data expirace uvedeného na krabičce.

POSTUP KONTROLY KVALITY

Každý den používání soupravy by měly být provedeny následující kontrolní postupy:

- Pozitivní kontroly** – použijte známý PYRáza pozitivní kmen, například *Enterococcus faecalis* ATCC™ 29212 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607030), *Streptococcus pyogenes* ATCC™ 19615 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607000) nebo *Citrobacter freundii* ATCC™ 8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800). Postupujte podle metody uvedené v postupu testu. Ujistěte se, že se do 20 sekund vytvoří fialové zbarvení.
- Negativní kontroly** – použijte známý PYRázově pozitivní kmen, například *Streptococcus agalactiae* ATCC™ 13813 nebo *Salmonella enteritidis* ATCC™ 13706 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Postupujte podle metody uvedené v postupu testu. Ujistěte se, že se do 20 sekund nevytvoří žádné fialové zbarvení.

Reagentie nepoužívejte, pokud jsou reakce s kontrolními organismy nesprávné.

ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

Podrobnosti o odběru a ošetření vzorku naleznete ve standardním učebním textu⁷.

Při identifikaci enterokoků a streptokoků skupiny A:

Nejllepší výsledky poskytují čerstvé primární nebo sekundární kultury kultivované přes noc na neselektivních médiích, jako je krevní agar. Testované kolonie musí být grampozitivní koky a kataláza negativní. V případě nedostatečného růstu je nutné provést subkultivaci.

Při identifikaci druhu *Citrobacter* spp. z druhů *Salmonella* spp. a Enterobacteriaceae:

Lze použít kolonie z neselektivních či selektivních médií (jako je médium XLD, agar MLCB, MacConkeyův agar, desoxycholát citrátový agar, agar pro růst bakterií *Salmonella* a *Shigella*, zelený agar Brilliant nebo enterický Hektoen agar (vyžadován modifikovaný postup testu – viz níže)). Misky by měly být testovány maximálně jednu hodinu po vyjmutí z inkubátoru.

Kolonie by měly být gramnegativní, oxidáza negativní a ureáza negativní⁷.

POSTUP TESTOVÁNÍ

- Naneste jednu podezřelou kolonii (0,5 mm nebo větší) na testovanou oblast pomocí plastové klíčky (dostatečné množství k vytvoření viditelného náťeru).
- Navlhčete testovanou oblast 1 kapkou pufru (ID0100M).
- Inkubujte inokulovanou testovací kartu při pokojové teplotě (15–30 °C) po dobu 5 minut.
- Na testovanou oblast naneste 1 kapku vyvíjecího roztoku PYR (ID0200M). Vývoj jasně fialové barvy na koloniích a okolo nich do 20 sekund potvrzuje aktivitu PYRázy.

ODEČET A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Pozitivní výsledek

Pozitivní výsledek je indikován vývojem jasně fialové barvy v inokulované části testované oblasti během 20 sekund po přidání vyvíjecího roztoku.

Negativní výsledek

Negativní výsledek je indikován absencí vývoje barvy v inokulované části testované oblasti během 20 sekund po přidání vyvíjecího roztoku.

MODIFIKOVANÝ POSTUP TESTU – ENTERICKÝ HEKTOEN AGAR

- Naneste jednu podezřelou kolonii (0,5 mm nebo větší) na testovanou oblast pomocí plastové klíčky (dostatečné množství k vytvoření viditelného náťeru).
- Navlhčete testovanou oblast jednou kapkou pufrového roztoku (ID0100M).
- Inokulovanou kartu vložte do vhodného plastového sáčku/pouzdra (přibližně 75 mm x 100 mm).
- Inkubujte při teplotě 37 °C ± 2 °C po dobu 30 minut.
- Na testovanou oblast naneste jednu kapku vyvíjecího roztoku PYR (ID0200M). Vývoj jasně fialové barvy na natřených koloniích a okolo nich do 20 sekund potvrzuje aktivitu PYRázy. (Je-li vybrána černá kolonie, může být fialové zbarvení mírně zastřeno černým pigmentem sulfidu železnatého.)
- Negativní reakce se projeví tím, že se barva náťeru inokula nezmění.
- Vývoj nazelenalého zbarvení během jedné minuty se považuje za negativní reakci PYR a je způsoben přítomností indolu. Tyto organismy nejsou bakterie druhu *Salmonella* spp.

Tabulka interpretace

OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY		
	Reaktivita s	
Organismus	Lancefieldova skupina	O.B.I.S. PYR
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	–
<i>Streptococcus skupiny C</i>	C	–
<i>Streptococcus bovis</i>	D	–
<i>Enterococcus faecalis</i>	D	+
<i>Enterococcus faecium</i>	D	+
<i>Streptococcus skupiny F</i>	F	–
<i>Streptococcus skupiny G</i>	G	–
<i>Citrobacter</i>	–	+
<i>Salmonella</i>	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–

OMEZENÍ TESTU

O.B.I.S. PYR je určen k detekci aktivity PYRázy u grampozitivních, kataláza-negativních koků a druhu *Citrobacter* spp.

Méně často se vyskytující izoláty laktokoků a aerokoků mohou být PYRáza pozitivní. Potvrzení enterokoků nebo streptokoků skupiny A lze dosáhnout sérologickým seskupením pomocí vhodného testu, např. soupravy pro stanovení streptokokových skupin Oxoid (DR0595A).

Některé kmeny *Enterobacter cloacae* jsou PYRáza negativní.

Reakce s O.B.I.S. PYR jsou markerem enzymové aktivity a občas se mohou vyskytnout atypické kmeny.

Při negativních reakcích může dojít k mírné změně barvy. Ta je omezena na bezprostřední místo inokulace. K usnadnění interpretace se podívejte na pozitivní a negativní kontrolu.

Inkubace delší než 20 sekund po přidání vyvíjecího roztoku PYR může vést k nespecifickým barevným reakcím. Z tohoto důvodu je důležité, aby byl test odečítán dle pokynů.

REFERENCE

- Ellner, P. D., Williams, D. A., Hosmer, M. E. and Cohenford, M. (1985). Preliminary evaluation of a rapid colorimetric method for the presumptive identification of Group A streptococci and enterococci. J. Clin. Microbiol. 22. 880–881.
- Facklam, R. R., Padula, J. F., Thacker, L. G., Wortham, E. C. and Sconyers, B. J. (1974). Presumptive identification of Group A streptococci and enterococci. Appl. Microbiol. 27. 107–109.
- Chagla, A. H., Borczyk, A. A., Aldom, J. E., Dalla Rosa, S. and Cole, D. D. (1993). Evaluation of the L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide hydrolysis test for differentiation of members of the families Enterobacteriaceae and Vibrionaceae. J. Clin. Microbiol. 31. 1946–1948.
- Bennett, A. R., MacPhee, S., Betts, R. and Post, D. (1999). Use of the enzyme pyrrolidonyl peptidase (Oxid PYR test) to distinguish *Citrobacter* from *Salmonella* isolated from foods. Letters in Applied Microbiology. 28. 175–178.
- Bascomb, S. and Manafi, M. (1988). Use of enzyme tests in the characterisation and identification of aerobic and facultatively anaerobic Gram-Positive cocci. Clinical Microbiology Reviews 11. 318–340.
- Data on file at Oxoid.
- Carroll K. C. et al. Manual of Clinical Microbiology, 12th Edition, 2019. ASM Press, Washington, D.C. USA.

LEGENDA SYMBOLŮ	
	Katalogové číslo
	Diagnostický zdravotnický prostředek In Vitro
	Kód dávky (číslo šarže)
	Omezení teploty (skladovací teplota)
	Spotřebujte do data (dobu použitelnosti)
	Nepoužívejte opakovaně
	Přečtěte si návod k použití (IFU)
	Nepoužívejte, pokud je obal poškozen
	Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů
	Výrobce
	Evropský autorizovaný zástupce
	Posouzení shody ve Spojeném království
	Označení CE



IFU X5916C 2022-09-05 Vytlačeno ve Velké Británii

 Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK

Potřebujete-li technickou pomoc, obraťte se na místního distributora.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Všechna práva vyhrazena.

Katalogové značky ATCC a ATCC jsou ochrannou známkou společnosti American Type Culture Collection.

Všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti Thermo Fisher Scientific Inc. a jejích dceřiných společností.



Code clé TSMX5916C
www.thermofisher.com

Europe +800 135 79 135 États-Unis 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 Autres pays +31 20 794 7071

Oxoid™ Biochemical Identification System (O.B.I.S.) PYR

FR

REF ID0580M..... 60

UTILISATION PRÉVUE

O.B.I.S. PYR est un test colorimétrique rapide et qualitatif pour la détection de l'activité PYRase dans les streptococci et *Citrobacter* spp. cultivés sur des milieux ensemencés. Le dispositif est utilisé dans le cadre de la procédure diagnostique visant à aider les cliniciens à déterminer les options de traitement pour les patients chez qui des infections bactériennes sont suspectées.

Le dispositif n'est pas automatisé, il est réservé à un usage professionnel et ne constitue pas un outil de diagnostic compagnon.

PRINCIPE DU TEST

L'activité PYRase distingue les streptocoques et les entérocoques du groupe A des autres groupes de streptocoques, y compris les streptocoques du groupe D (anciennement appelés streptocoques fécaux)^{1,2}, offrant ainsi une alternative de diagnostic rapide aux méthodes de culture chronophages. De plus, la même activité enzymatique peut être utilisée pour faciliter la différenciation entre les espèces *Salmonella* spp. et *Citrobacter* spp. et d'autres Enterobacteriaceae^{3,4}.

Certains tests PYRase incorporent d'autres substrats chromogéniques, tels que les β-naphthylamides. Ceux-ci offrent des performances de diagnostic similaires, mais doivent être manipulés et éliminés avec précaution en raison de leur toxicité potentielle⁵.

Le test O.B.I.S. PYR utilise des cartes de test imprégnées d'acide L-pyroglyutamique 7-amido-4-méthylcoumarine et d'une solution de développement contenant du diméthylaminocinnamaldéhyde. L'hydrolyse enzymatique de ce substrat par les entérocoques, les streptocoques du groupe A et *Citrobacter* spp. produit une couleur violette suite à l'ajout de la solution de développement PYR⁶.

COMPOSITION DU COFFRET (ID0580M)

Chaque coffret O.B.I.S. PYR contient les réactifs suivants, suffisants pour 60 tests :

ID0581M	Cartes test PYR : 1 sachet contenant 10 cartes et un sachet absorbant l'humidité. Il y a 6 zones de réaction de test sur chaque carte. 60 tests au total. Chaque carte-test est imprégnée d'acide L-pyroglyutamique 7-amido-4-méthylcoumarine.
ID0200M	Solution de développement PYR – 1 flacon compte-gouttes contenant 7 ml d'acide chlorhydrique 1M et 0,5 % p/v de diméthylaminocinnamaldéhyde
ID0100M	Tampon – 1 flacon compte-gouttes contenant 7 ml de PBS (Phosphate Buffered Saline)

Instructions d'utilisation

Matériel requis, mais non fourni

Oeses d'inoculation microbiologique en plastique.

PRÉCAUTIONS

Ce produit est prévu pour une utilisation diagnostic *in vitro* uniquement.

Ne pas utiliser les réactifs O.B.I.S. PYR au-delà de la date limite d'utilisation.

Les échantillons de matériaux peuvent contenir des organismes pathogènes. Ils doivent être manipulés avec les précautions qui conviennent.

La solution de développement PYR (ID0200M) contient un acide faible. Éviter le contact direct en portant un équipement de protection adapté. Si le produit entre en contact avec la peau, les muqueuses ou les yeux, lavez immédiatement la zone concernée en la rinçant abondamment à l'eau. Les cartes de test et les boucles d'inoculation usagées doivent être éliminées en tant que déchets biologiques dangereux et incinérées ou autoclavées pendant 15 minutes à 121 °C.

Se reporter à la fiche de données de sécurité (FDS) sur le site Internet de l'entreprise et à l'étiquetage du produit pour prendre connaissance des informations relatives aux composants potentiellement dangereux.

Les instructions doivent être lues et respectées scrupuleusement.

Tout incident grave se produisant en relation avec le dispositif doit être signalé au fabricant et aux autorités compétentes de l'État membre dans lequel l'utilisateur ou patient est établi.

En cas de dysfonctionnement, ne pas utiliser le dispositif.

CONSERVATION ET OUVERTURE

Ce coffret doit être conservé entre 2 et 8 °C. Laissez les sachets atteindre la température ambiante avant de les ouvrir pour éviter la formation de condensation sur les cartes de test.

Ouvrez les sachets en coupant avec des ciseaux entre le joint à l'extrémité du sachet et le joint de fermeture à glissière.

Une fois ouvert, retirez le nombre de cartes de test nécessaires pour effectuer des tests dans les 10 minutes qui suivent et refermez le sachet immédiatement. Si moins de tests sont nécessaires, coupez la carte de test et remettez les parties non utilisées dans le sachet. Ne remettez pas les portions utilisées dans le sachet car elles seront contaminées dans ces conditions.

Conservés comme indiqué, les réactifs conservent leur activité jusqu'à la date limite d'utilisation indiquée sur la boîte.

PROCÉDURE DE CONTRÔLE QUALITÉ

Chaque jour où le kit est utilisé, les procédures de contrôle suivantes doivent être effectuées :

- Contrôle positif** – Utilisez une souche positive à la PYRase connue, telle que *Enterococcus faecalis* ATCC™ 29212 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607030), *Streptococcus pyogenes* ATCC™ 19615 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607000) OU *Citrobacter freundii* ATCC™ 8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800). Suivez la méthode indiquée dans la procédure de test. Assurez-vous qu'une couleur violette se forme dans les 20 secondes.
- Contrôle négatif** – Utilisez une souche connue négative pour la PYRase, telle que *Streptococcus agalactiae* ATCC™ 13813 or *Salmonella enteritidis* ATCC™ 13706 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Suivez la méthode indiquée dans la procédure de test. Assurez-vous qu'aucune couleur violette ne se forme dans les 20 secondes.

Ne pas utiliser les réactifs si les réactions avec les organismes de contrôle sont incorrectes.

PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Pour les détails de la collecte et du traitement des échantillons, il convient de consulter un manuel standard⁷.

Lors de l'identification des entérocoques et des streptocoques du groupe A :

Les cultures primaires ou secondaires fraîches cultivées pendant une nuit sur des milieux non sélectifs tels que la gélose au sang donnent les meilleurs résultats. Les colonies testées doivent être des cocci à gram positif et à catalase négative. En cas de croissance insuffisante, une sous-culture doit être effectuée.

Lors de l'identification de *Citrobacter* spp. parmi *Salmonella* spp. et Enterobacteriaceae :

Les colonies provenant de milieux non sélectifs ou de milieux sélectifs (tels que le milieu XLD, la gélose MLCB, la gélose MacConkey, la gélose au citrate de désoxycholate, la gélose Salmonella Shigella, la gélose verte brillante ou la gélose entérique Hektoen (procédure de test modifiée requise – voir ci-dessous)) peuvent être utilisées. Les boîtes doivent être testées au maximum une heure après avoir été retirées de l'incubateur.

Les colonies doivent être à gram négatif, à oxydase négative et à uréase négative⁷.

PROCÉDURE

- Appliquer une colonie suspecte (0,5 mm ou plus) sur la zone de test à l'aide d'une anse en plastique (assez pour faire un frottis visible).
- Humidifier la zone de test avec 1 goutte de tampon (ID0100M).
- Incuber la carte-test inoculée à température ambiante (15–30 °C) pendant 5 minutes.
- Verser 1 goutte de solution de développement PYR (ID0200M) sur la zone de test. Le développement d'une couleur violette vive sur et autour des colonies en 20 secondes confirme l'activité de la PYRase.

LECTURE ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Résultat positif

Un résultat positif est indiqué par le développement d'une couleur violette vive dans la partie inoculée de la zone de test dans les 20 secondes suivant l'ajout de la solution de développement.

Résultat négatif

Un résultat négatif est indiqué par l'absence de développement de la couleur dans la partie inoculée de la zone d'essai dans la période de 20 secondes suivant l'ajout de la solution de développement.

PROCÉDURE DE TEST MODIFIÉE – GÉLOSE ENTÉRIQUE HEKTOEN

- Appliquer une colonie suspecte (0,5 mm ou plus) à la zone de test à l'aide d'une anse en plastique (assez pour faire un frottis visible).
- Humidifier la zone de test avec une goutte de solution tampon (ID0100M).
- Placer la carte inoculée dans un sac/une pochette en plastique approprié(e) (environ 75 mm X 100 mm).
- Incuber à 37 °C ± 2 °C pendant 30 minutes.
- Verser 1 goutte de solution de développement PYR (ID0200M) sur la zone de test. Le développement d'une couleur violette vive sur et autour des colonies déposées en 20 secondes confirme l'activité de la PYRase. (La couleur violette peut être légèrement obscurcie par la pigmentation noire du sulfure ferreux si une colonie noire est sélectionnée.)
- Une réaction négative est indiquée par aucun changement de couleur du frottis d'inoculum.
- L'apparition d'une couleur verdâtre en une minute est considérée comme une réaction PYR négative et est due à la présence d'indole. Ces organismes ne sont pas *Salmonelle* spp.

Tableau d'interprétation

RÉSULTATS ESCOMPTÉS		
Organisme	Réactivité avec	
	Groupe Lancefield	O.B.I.S. PYR
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	–
<i>Streptococcus Group C</i>	C	–
<i>Streptococcus bovis</i>	D	–
<i>Enterococcus faecalis</i>	D	+
<i>Enterococcus faecium</i>	D	+
<i>Streptococcus Group F</i>	F	–
<i>Streptococcus Group G</i>	G	–
<i>Citrobacter</i>	–	+
<i>Salmonellae</i>	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–

LIMITES DU TEST

O.B.I.S. PYR est destiné à la détection de l'activité PYRase dans les cocci à gram positif, à catalase négative et *Citrobacter* spp.

Des isolats moins fréquents de lactocoques et d'aérocoques peuvent être positifs à la PYRase. La confirmation de la présence d'entérocoques ou de streptocoques du groupe A peut être obtenue par groupage sérologique à l'aide d'un test approprié, par exemple le kit de groupage des streptocoques Oxoid (DR0595A).

Certaines souches de *Enterobacter cloacae* sont PYRase négatives.

Les réactions avec OBIS PYR sont un marqueur de l'activité enzymatique et des souches atypiques peuvent parfois apparaître.

Un léger changement de couleur peut se développer avec des réactions négatives. Ceci est limité au site immédiat d'inoculation. Se référer aux contrôles positifs et négatifs pour faciliter l'interprétation.

L'incubation au-delà de 20 secondes après l'ajout de la solution de développement PYR peut produire des réactions colorées non spécifiques. Il est donc important que le test soit lu comme indiqué.

RÉFÉRENCES

- Ellner, P. D., Williams, D. A., Hosmer, M. E. and Cohenford, M. (1985). Preliminary evaluation of a rapid colorimetric method for the presumptive identification of Group A streptococci and enterococci. J. Clin. Microbiol. 22. 880–881.
- Facklam, R. R., Padula, J. F., Thacker, L. G., Wortham, E. C. and Sconyers, B. J. (1974). Presumptive identification of Group A, B and D streptococci. Appl. Microbiol. 27. 107–109.
- Chagla, A. H., Borczyk, A. A., Aldom, J. E., Dalla Rosa, S. and Cole, D. D. (1993). Evaluation of the L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide hydrolysis test for differentiation of members of the families Enterobacteriaceae and Vibrionaceae. J. Clin. Microbiol. 31. 1946–1948.
- Bennett, A. R., MacPhee, S., Betts, R. and Post, D. (1999). Use of the enzyme pyrrolidonyl peptidase (Oxoid PYR test) to distinguish *Citrobacter* from *Salmonella* isolated from foods. Letters in Applied Microbiology. 28. 175–178.
- Bascomb, S. and Manafi, M. (1988). Use of enzyme tests in the characterisation and identification of aerobic and facultatively anaerobic Gram-Positive cocci. Clinical Microbiology Reviews 11. 318–340.
- Data on file at Oxoid.
- Carroll K. C. et al. Manual of Clinical Microbiology, 12th Edition, 2019. ASM Press, Washington, D.C. ÉTATS-UNIS.

SYMBLES

	Référence catalogue
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Code de lot (Numéro de lot)
	Limites de température (temp. de stockage)
	Utiliser avant (Date de péremption)
	Ne pas réutiliser
	Consulter les instructions d'utilisation
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
	Contenu suffisant pour <n> tests
	Fabriqué par
	Représentant européen autorisé
	Conformité pour le Royaume-Uni évaluée
	Marque CE



IFU X5916C 2022-09-05 Imprimé au RU

 Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Royaume-Uni

Pour une assistance technique, contacter le distributeur local.

© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Tous droits réservés.

ATCC et la marque catalogue ATCC sont des marques déposées d'American Type Culture Collection.

Toutes les autres marques sont la propriété de Thermo Fisher Scientific Inc. et de ses filiales.



Schlüssel-Code TSMX5916C
www.thermofisher.com

Europa +800 135 79 135 US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Oxoid™ Biochemical Identification System (O.B.I.S.) PYR

REF ID0580M.....▽60

VERWENDUNGSZWECK

O.B.I.S. PYR ist ein schneller, qualitativer, kolorimetrischer Test zum Nachweis der PYRase-Aktivität in Streptokokken und *Citrobacter* spp. auf Nährböden. Das Produkt wird in einem diagnostischen Arbeitsablauf verwendet, um Klinikern bei den Behandlungsoptionen für Patienten mit Verdacht auf bakterielle Infektionen zu helfen.

Das Produkt ist nicht automatisiert, nur für den professionellen Gebrauch bestimmt und ist kein Begleitdiagnostikum.

PRINZIP DES TESTS

Die PYRase-Aktivität unterscheidet Streptokokken der Gruppe A und Enterokokken von anderen Streptokokkengruppen, einschließlich Streptokokken der Gruppe D (früher Fäkalstreptokokken genannt)^{1,2}, und bietet damit eine schnelle diagnostische Alternative zu zeitaufwändigen Kulturmethoden. Darüber hinaus kann dieselbe enzymatische Aktivität auch zur Unterscheidung von *Salmonella* spp. von *Citrobacter* spp. und anderen Enterobacteriaceae verwendet werden^{3,4}.

Einige PYRase-Tests verwenden andere chromogene Substrate, wie z. B. β-Naphthylamide. Diese liefern eine ähnliche diagnostische Leistung, sollten aber aufgrund ihrer potenziellen Toxizität mit Vorsicht behandelt und entsorgt werden⁵.

Der O.B.I.S. PYR-Test verwendet Testkarten, die mit L-Pyroglutaminsäure 7-Amido-4-Methylcumarin und einer Entwicklungslösung mit Dimethylaminocinnamaldehyd imprägniert sind. Die enzymatische Hydrolyse dieses Substrats durch Enterokokken, Streptokokken der Gruppe A und *Citrobacter* spp. erzeugt nach Zugabe der PYR-Entwicklungslösung eine violette Farbe⁶.

BESTANDTEILE DES KITS (ID0580M)

Jedes O.B.I.S. PYR-Kit enthält die folgenden Reagenzien, ausreichend für 60 Tests:

ID0581M	PYR-Testkarten: 1 Beutel mit 10 Karten und einem feuchtigkeitssorbierenden Säckchen. Auf jeder Karte befinden sich 6 Testreaktionsbereiche. insgesamt 60 Tests. Jede Testkarte ist mit L-Pyroglutaminsäure 7-Amido-4-Methylcumarin imprägniert.
ID0200M	PYR-Entwicklungslösung – 1 Tropfflasche mit 7 ml 1 M Salzsäure und 0,5 % w/v Dimethylaminocinnamaldehyd
ID0100M	Puffer – 1 Tropfflasche mit 7 ml PBS (Phosphatgepufferte Kochsalzlösung)

Gebrauchsanweisung (IFU)

Erforderliches, aber nicht mitgeliefertes Material

Mikrobiologische Inokulationsösen aus Kunststoff.

VORSICHTSMASSNAHMEN

Dieses Produkt ist nur für die *In-vitro-Diagnostik* geeignet.

Verwenden Sie die O.B.I.S. PYR-Reagenzien nicht nach Ablauf des Verfallsdatums.

Das Probenmaterial kann krankheitserregende Organismen enthalten, behandeln Sie es mit den entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen.

Die PYR-Entwicklungslösung (ID0200M) enthält eine schwache Säure. Vermeiden Sie direkten Kontakt, indem Sie eine geeignete Schutzausrüstung tragen. Wenn das Material mit der Haut, den Schleimhäuten oder den Augen in Berührung kommt, spülen Sie den Bereich sofort mit reichlich Wasser ab. Benutzte Testkarten und Impfösen müssen als biologisch gefährlicher Abfall entsorgt und verbrannt oder 15 Minuten lang bei 121 °C autoklaviert werden.

Informationen über potenziell gefährliche Inhaltsstoffe entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt (SDB) auf der Website des Unternehmens und der Produktkennzeichnung.

Die Gebrauchsanweisung sollte sorgfältig gelesen und befolgt werden.

Jeder schwerwiegende Zwischenfall im Zusammenhang mit dem Produkt ist dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, zu melden.

Verwenden Sie das Produkt im Falle einer Störung nicht.

LAGERUNG UND ÖFFNUNG

Dieses Kit muss bei 2–8 °C gelagert werden. Lassen Sie die Beutel vor dem Öffnen auf Raumtemperatur kommen, um die Bildung von Kondenswasser auf den Testkarten zu vermeiden.

Öffnen Sie die Beutel, indem Sie mit einer Schere zwischen dem Siegel am Ende des Beutels und dem Zip-Lock-Verschluss schneiden.

Nach dem Öffnen nehmen Sie so viele Testkarten heraus, wie Sie innerhalb der nächsten 10 Minuten testen möchten, und verschließen den Beutel sofort wieder. Wenn Sie weniger Tests benötigen, schneiden Sie die Testkarte ab und legen die nicht verwendeten Teile in den Beutel zurück. Geben Sie gebrauchte Portionen nicht zurück in den Beutel, da sie unter diesen Bedingungen kontaminiert werden.

Wenn die Reagenzien wie angegeben gelagert werden, behalten sie ihre Aktivität bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum.

VERFAHREN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

An jedem Tag, an dem das Kit verwendet wird, sollten die folgenden Kontrollmaßnahmen durchgeführt werden:

- Positiv-Kontrolle** – Verwenden Sie einen bekannten PYRase-positiven Stamm wie *Enterococcus faecalis* ATCC™ 29212 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607030), *Streptococcus pyogenes* ATCC™ 19615 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607000) oder *Citrobacter freundii* ATCC™ 8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800). Befolgen Sie die im Testverfahren angegebene Methode. Achten Sie darauf, dass sich innerhalb von 20 Sekunden eine violette Farbe bildet.
- Negativ-Kontrolle** – Verwenden Sie einen bekannten PYRase-negativen Stamm wie *Streptococcus agalactiae* ATCC™ 13813 oder *Salmonella enteritidis* ATCC™ 13706 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Befolgen Sie die im Testverfahren angegebene Methode. Achten Sie darauf, dass sich innerhalb von 20 Sekunden keine violette Farbe bildet.

Verwenden Sie die Reagenzien nicht, wenn die Reaktionen mit Kontrollorganismen fehlerhaft sind.

ENTNAHME UND VORBEREITUNG VON PROBEN

Für Einzelheiten zur Probenentnahme und -behandlung sollten Sie ein Standardlehrbuch zu Rate ziehen⁷.

Bei der Identifizierung von Enterokokken und Streptokokken der Gruppe A:

Frische Primär- oder Sekundärkulturen, die über Nacht auf nicht-selektiven Medien wie Blutagar gewachsen sind, liefern die besten Ergebnisse. Die getesteten Kolonien müssen grampositive Kokken und Katalase-negativ sein. Im Falle eines unzureichenden Wachstums sollte eine Subkultur angelegt werden.

Bei der Identifizierung von *Citrobacter* spp. von *Salmonella* spp. und Enterobacteriaceae:

Es können Kolonien von nicht-selektiven Medien oder selektiven Medien (wie XLD-Medium, MLCB-Agar, MacConkey-Agar, Desoxycholat Citrat-Agar, *Salmonella* Shigella-Agar, Brilliant Grüner Agar oder Hektoen Enterischer Agar (modifiziertes Testverfahren erforderlich – siehe unten)) verwendet werden. Die Platten sollten maximal eine Stunde, nachdem sie aus dem Inkubator genommen wurden, getestet werden.

Die Kolonien sollten gramnegativ, oxidase-negativ und urease-negativ sein⁷.

TESTVERFAHREN

- Tragen Sie eine verdächtige Kolonie (0,5 mm oder größer) mit einer Kunststofföse auf die Testfläche auf (genug, um einen sichtbaren Abstrich zu machen).
- Befeuchten Sie die Testfläche mit 1 Tropfen Puffer (ID0100M).
- Inkubieren Sie die geimpfte Testkarte bei Raumtemperatur (15–30 °C) für 5 Minuten.
- Geben Sie 1 Tropfen der PYR-Entwicklungslösung (ID0200M) auf die Testfläche. Die Entwicklung einer leuchtend violetten Farbe auf und um die Kolonien innerhalb von 20 Sekunden bestätigt die PYRase-Aktivität.

LESEN UND INTERPRETIEREN DER ERGEBNISSE

Positives Ergebnis

Ein positives Ergebnis wird durch die Entwicklung einer leuchtend violetten Farbe im geimpften Teil der Testfläche innerhalb von 20 Sekunden nach Zugabe der Entwicklungslösung angezeigt.

Negatives Ergebnis

Ein negatives Ergebnis wird durch das Ausbleiben der Farbentwicklung im geimpften Teil der Testfläche innerhalb von 20 Sekunden nach Zugabe der Entwicklungslösung angezeigt.

MODIFIZIERTES TESTVERFAHREN – HEKTOEN ENTERISCHER AGAR

- Tragen Sie eine verdächtige Kolonie (0,5 mm oder größer) mit einer Kunststofföse auf die Testfläche auf (genug, um einen sichtbaren Abstrich zu machen).
- Befeuchten Sie den Testbereich mit einem Tropfen der Pufferlösung (ID0100M).
- Legen Sie die geimpfte Karte in einen geeigneten Plastikbeutel/eine Plastikhülle (ca. 75 mm x 100 mm).
- Inkubieren Sie bei 37 °C ± 2 °C für 30 Minuten.
- Geben Sie einen Tropfen der PYR-Entwicklungslösung (ID0200M) auf die Testfläche. Die Entwicklung einer leuchtend violetten Farbe auf und um die verschmierte Kolonie innerhalb von 20 Sekunden bestätigt die PYRase-Aktivität. (Die violette Farbe kann durch die schwarze Pigmentierung des Eisensulfids leicht verdeckt werden, wenn eine schwarze Kolonie ausgewählt wird.)
- Eine negative Reaktion zeigt sich darin, dass sich die Farbe des Inokulum-Ausstrichs nicht verändert.
- Die Entwicklung einer grünen Farbe innerhalb einer Minute gilt als negative PYR-Reaktion und ist auf die Anwesenheit von Indol zurückzuführen. Diese Organismen sind keine *Salmonella* spp.

ERWARTETE ERGEBNISSE		
Organismus	Reaktivität mit	
	Lancefield-Gruppe	O.B.I.S. PYR
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	–
<i>Streptokokken Gruppe C</i>	C	–
<i>Streptokokkus bovis</i>	D	–
<i>Enterokokkus faecalis</i>	D	+
<i>Enterokokkus faecium</i>	D	+
<i>Streptokokken-Gruppe F</i>	F	–
<i>Streptokokken-Gruppe G</i>	G	–
<i>Citrobacter</i>	–	+
<i>Salmonella</i>	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–

EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTS

O.B.I.S. PYR ist für den Nachweis von PYRase-Aktivität in grampositiven, Katalase-negativen Kokken und *Citrobacter* spp. bestimmt.

Seltener vorkommende Isolate von Laktokokken und Aerokokken können PYRase-positiv sein. Die Bestätigung von Enterokokken oder Streptokokken der Gruppe A kann durch serologische Gruppierung mit einem geeigneten Test erfolgen, z. B. Oxoid Streptokokken-Gruppierungskit (DRO595A).

Einige Stämme von *Enterobacter cloacae* sind PYRase-negativ.

Die Reaktionen mit O.B.I.S. PYR sind ein Marker für Enzymaktivität und atypische Stämme können gelegentlich auftreten.

Bei negativen Reaktionen kann es zu einer leichten Farbveränderung kommen. Diese ist auf den unmittelbaren Ort der Inokulation beschränkt. Beziehen Sie sich auf die positiven und negativen Kontrollen, um die Interpretation zu erleichtern.

Eine Inkubation von mehr als 20 Sekunden nach Zugabe der PYR-Entwicklungslösung kann zu unspezifischen Farbreaktionen führen. Es ist daher wichtig, dass der Test wie angegeben gelesen wird.

REFERENZEN

- Ellner, P. D., Williams, D. A., Hosmer, M. E. und Cohenford, M. (1985). Preliminary evaluation of a rapid colorimetric method for the presumptive identification of Group A streptococci and enterococci. J. Clin. Microbiol. 22. 880–881.
- Facklam, R. R., Padula, J. F., Thacker, L. G., Wortham, E. C. und Sconyers, B. J. (1974). Presumptive identification of Group A, B und D streptococci. Appl. Microbiol. 27. 107–109.
- Chagla, A. H., Borczyk, A. A., Aldom, J. E., Dalla Rosa, S. und Cole, D. D. (1993). Evaluation of the L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide hydrolysis test for differentiation of members of the families Enterobacteriaceae und Vibrionaceae. J. Clin. Microbiol. 31. 1946–1948.
- Bennett, A. R., MacPhee, S., Betts, R. und Post, D. (1999). Use of the enzyme pyrrolidonyl peptidase (Oxoid PYR test) to distinguish *Citrobacter* from *Salmonella* isolated from foods. Letters in Applied Microbiology. 28. 175–178.
- Bascomb, S. und Manafi, M. (1988). Use of enzyme tests in the characterisation and identification of aerobic and facultatively anaerobic Gram-Positive cocci. Clinical Microbiology Reviews 11. 318–340.
- Archivdaten bei Oxoid.
- Carroll K. C. et al. Manual of Clinical Microbiology, 12th Edition, 2019. ASM Press, Washington, D.C. USA.

SYMBOLLEGENDE

	Katalognummer
	Medizinprodukt zum <i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Chargencode (Losnummer)
	Temperaturbeschränkungen (Lagertemp.)
	Verwendung bis (Verfallsdatum)
	Nicht wiederverwenden
	Gebrauchsanweisung beachten
	Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist
	Enthält ausreichend für <n> Tests
	Hergestellt von
	Europäischer Bevollmächtigter
	Britische Konformität geprüft
	CE-Zeichen



Gebrauchsanweisung X5916C 2022-09-05 Gedruckt in Großbritannien

 Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Vereinigtes
Königreich

Für technische Unterstützung wenden Sie sich bitte an Ihren örtlichen Händler.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle Rechte vorbehalten.

ATCC und ATCC-Katalogmarken sind eine Marke der American Type Culture
Collection.

Alle anderen Marken sind Eigentum der Thermo Fisher Scientific Inc. und ihrer
Tochtergesellschaften.



Kulcskód TSMX5916C
www.thermofisher.com

Európa: +800 135 79 135 USA: 1 855 236 0910
Kanada: 1 855 805 8539 Többi ország: +31 20 794 7071

Oxoid™ Biochemical Identification System (O.B.I.S.) PYR

REF ID0580M.....▽60

RENDELTETTÉSSZERŰ HASZNÁLAT

O.B.I.S. A PYR egy gyors, kvalitatív, kolorimetrikus teszt a PYRáz-aktivitás kimutatására táptalajokon tenyésztett Streptococcus és *Citrobacter* spp. baktériumokban. Az eszköz diagnosztikai munkafolyamatban használatos, hogy segítse a klinikusokat a bakteriális fertőzésre gyanús betegek lehetséges kezelési lehetőségeinek alkalmazásában.

Az eszköz nem automatizált, kizárólag professzionális használatra szolgál, és nem egy kapcsolt diagnosztikai eszköz.

A TESZT ELVE

A PYRáz-aktivitás megkülönbözteti az A csoportú streptococcusokat és az enterococcusokat más streptococcus csoportoktól, beleértve a D csoportú streptococcusokat (korábban fekális streptococcusoknak nevezték őket^{1,2} is, így gyors diagnosztikai alternatívát kínál az időigényes tenyésztési módszerek helyett. Ezenkívül ugyanez az enzimaktivitás felhasználható a *Salmonella* spp. megkülönböztetésére a *Citrobacter* spp. és más Enterobacteriaceae^{3,4} fajoktól.

Egyes PYRáz-tesztek más kromogén szubsztrátokat, például β-naftilamidokat tartalmaznak. Ezek hasonló diagnosztikai teljesítményt nyújtanak, de lehetséges toxicitásuk miatt óvatosan kell kezelni és ártalmatlanítani őket*.

Az O.B.I.S. PYR-teszt L-piroglutaminsav-7-amid-4-metilkumarinnal és dimetil-aminocinnamaldehydet tartalmazó fejlesztőoldattal impregnált tesztkártyákat használ. E szubsztrát enzimatikusan hidrolizise enterococcusok, A csoportú streptococcusok és *Citrobacter* spp. által lila színt eredményez a PYR fejlesztőoldat⁵ hozzáadását követően.

A KÉSZLET ÖSSZETEVŐI (ID0580M)

Minden O.B.I.S. PYR-készlet a következő, 60 teszthez elegendő reagenseket tartalmazza:

ID0581M PYR tesztkártyák: 1 tasak, amely 10 kártyát és egy nedvességetnyelő tasakot tartalmaz. Minden kártyán 6 tesztreakció-terület található. 60 teszt összesen. Mindegyik tesztkártya L-piroglutaminsav-7-amid-4-metilkumarinnal van impregnálva.

ID0200M PYR fejlesztőoldat - 1 cseppentős üveg, amely 7 ml 1M sósavat és 0,5% w/v dimetil-aminocinnamaldehydet tartalmaz

ID0100M Puffer - 1 cseppentős üveg, amely 7 ml PBS-t (foszfát-pufferes sóoldatot) tartalmaz

Használati utasítás (IFU)

Szükséges, de nem mellékelte anyagok

Műanyag mikrobiológiai oltókacsok.

ÖVINTÉZKEDÉSEK

A termék kizárólag *in vitro* diagnosztikai felhasználásra szolgál.

Ne használja az O.B.I.S. PYR-reagenseket a lejáratú időn túl.

A mintanyag kórokozó szervezeteket tartalmazhat, megfelelő övintézkedésekkel kell kezelni.

A PYR fejlesztőoldat (ID0200M) gyenge savat tartalmaz. Megfelelő védőfelszerelés viselésével kerülje a közvetlen érintkezést. Ha az anyag bőrrel, nyálkahártyával vagy szemmel érintkezik, bő vízzel leöblítve azonnal mossa le a területet. A használt tesztkártyákat és oltókacsokat biológiailag veszélyes hulladékként kell ártalmatlanítani, és el kell égetni vagy 15 percig 121 °C-on autoklávozni kell őket.

A potenciálisan veszélyes összetevőkkel kapcsolatos információért lásd az anyagbiztonsági adatlapot (SDS) a vállalat weboldalán és a termékcímkét.

Az utasításokat gondosan el kell olvasni és követni kell.

Az eszközzel kapcsolatban bekövetkezett minden súlyos eseményt jelenteni kell a gyártónak és a felhasználó és/vagy a beteg lakhelye szerinti tagállam illetékes hatóságának.

Meghibásodás esetén ne használja az eszközt.

TÁROLÁS ÉS FELNYITÁS

Ezt a készletet 2–8 °C-on kell tárolni. Hagyja, hogy a tasakok felnyitás előtt elérjék a szobahőmérsékletet, nehogy a pára kicsapódjon a tesztkártyákra.

A tasakokat úgy nyissa ki, hogy ollóval elvágja a tasak végén lévő lezárás és a simítózár közötti részt.

Ha kinyitotta, vegye ki a következő 10 percen belül a vizsgálathoz szükséges számú tesztkártyát, és azonnal zárja vissza a tasakot. Ha kevesebb vizsgálatra van szüksége, vágja ki a tesztkártyát, és a fel nem használt részeket tegye vissza a tasakba. Ne tegye vissza a használt részeket a tasakba, mert azok ilyen körülmények között szennyeződnek.

A megjelölt módon tárolva a reagensek a dobozon feltüntetett lejárati dátumig megőrzik a reakcióképességüket.

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉSI ELJÁRÁS

A készlet használatának minden napján a következő ellenőrzési eljárásokat kell elvégezni:

- Pozitív kontroll** – Használjon egy ismert PYRáz-pozitív törzset, például *Enterococcus faecalis* ATCC™ 29212 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607030), *Streptococcus pyogenes* ATCC™ 19615 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607000) vagy *Citrobacter freundii* ATCC™ 8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800) törzset. Kövesse a vizsgálati eljárásban megadott módszert. Győződjön meg arról, hogy 20 másodpercen belül lila szín alakul ki.
- Negatív kontroll** – Használjon ismert PYRáz-negatív törzset, például *Streptococcus agalactiae* ATCC™ 13813 vagy *Salmonella enteritidis* ATCC™ 13706 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200) törzset. Kövesse a vizsgálati eljárásban megadott módszert. Győződjön meg arról, hogy 20 másodpercen belül nem alakul ki lila szín.

Ne használja a reagenseket, ha a kontrollszervezetekkel kiváltott reakciók nem megfelelőek.

MINTAVÉTEL ÉS ELŐKÉSZÍTÉS

A mintagyűjtés és a kezelés részletes leírását olvassa el egy szokványos tankönyvben*.

Az enterococcusok és az A csoportú streptococcusok azonosításakor:

A legjobb eredményeket nem szelektív táptalajon, például véragaron egy éjszaka át tenyésztett friss elsődleges vagy másodlagos tenyészetek adják. A vizsgált telepeknek Gram-pozitív coccioknak és kataláz-negatívnak kell lenniük. Elégtelen szaporodás esetén továbbtenyésztést kell végezni.

A *Citrobacter* spp. megkülönböztetése a *Salmonella* spp. és az Enterobacteriaceae fajoktól:

Nem szelektív táptalajon vagy szelektív táptalajon (pl. XLD Medium, MLCB Agar, MacConkey Agar, Desoxycholate Citrate Agar, Salmonella Shigella Agar, Brilliant Green Agar vagy Hektoen Enteric Agar (módosított vizsgálati eljárás szükséges - lásd alább)) lévő telepek használhatók. A lemezeket legfeljebb egy órával az inkubátorból való kivételt követően kell tesztelni.

A telepeknek Gram-negatívnak, oxidáz-negatívnak és ureáz-negatívnak kell lenniük*.

TESZTELÉSI ELJÁRÁS

- Vigyen fel egy gyanús (0,5 mm-es vagy nagyobb) telepet a vizsgálati területre egy műanyag kaccsal (annyit, hogy látható kenetet készítsen).
- Nedvesítse meg a vizsgálati területet 1 csepp pufferrel (ID0100M).
- Az inokulált tesztkártyát szobahőmérsékleten (15–30°C) inkubálja 5 percig.
- Adagoljon 1 csepp PYR fejlesztőoldatot (ID0200M) a teszterületre. A PYRáz-aktivitást megerősíti, ha a telepeken és a telepek körül 20 másodpercen belül élénk lila szín alakul ki.

AZ EREDMÉNYEK LEOLVASÁSA ÉS ÉRTELMEZÉSE

Pozitív eredmény

A pozitív eredményt az jelzi, ha a teszterület inokulált részén a fejlesztőoldat hozzáadását követő 20 másodpercen belül élénk lila szín alakul ki.

Negatív eredmény

A negatív eredményt az jelzi, ha a teszterület inokulált részén a fejlesztőoldat hozzáadását követő 20 másodpercen belül nem jelenik meg elszíneződés.

MÓDOSÍTOTT VIZSGÁLATI ELJÁRÁS - HEKTOEN ENTERIC AGAR

- Vigyen fel egy gyanús (0,5 mm-es vagy nagyobb) telepet a vizsgálati területre egy műanyag kaccsal (annyit, hogy látható kenetet készítsen).
- Nedvesítse meg a vizsgálati területet egy csepp pufferoldattal (ID0100M).
- Helyezze az inokulált kártyát egy megfelelő műanyag tasakba/tokba (kb. 75 mm X 100 mm).
- Inkubálja 37 °C ± 2 °C-on 30 percig.
- Adagoljon egy csepp PYR fejlesztőoldatot (ID0200M) a teszterületre. A PYRáz-aktivitást megerősíti, ha a kenetként felvitt telepeken és a telepek körül 20 másodpercen belül élénk lila szín alakul ki. (A lila színt kissé elfedheti a vas-szulfid fekete pigmentációja, ha fekete kolóniát választott.)
- A negatív reakciót az jelzi, hogy az inokulumenet színe nem változik.
- A zöldes szín egy percen belül kialakulása negatív PYR-reakciónak tekinthető, és az indol jelenlétének tudható be. Ezek nem *Salmonella* spp. organizmusok.

Értelmezési táblázat

VÁRTHATÓ EREDMÉNYEK		
	Reakcióképesség	
	Lancefield csoporttal	O.B.I.S. PYR-rel
Mikroorganizmus		
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	–
<i>Streptococcus csoport C</i>	C	–
<i>Streptococcus bovis</i>	D	–
<i>Enterococcus faecalis</i>	D	+
<i>Enterococcus faecium</i>	D	+
<i>Streptococcus csoport: F</i>	F	–
<i>Streptococcus csoport: G</i>	G	–
<i>Citrobacter</i>	–	+
<i>Salmonellae</i>	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–

A VIZSGÁLAT KORLÁTAI

O.B.I.S. A PYR a PYRáz-aktivitás kimutatására szolgál Gram-pozitív, kataláz-negatív cocciokban és *Citrobacter* spp. baktériumokban.

A ritkábban előforduló lactococcusok és aerococcusok izolátumai PYRase-pozitívak lehetnek. Az enterococcusok vagy az A csoportú streptococcusok megerősítése egy megfelelő tesztel, pl. az Oxoid Streptococcal Grouping Kit (DR0595A) termékkel végzett szerológiai csoportosítással történhet.

Az *Enterobacter cloacae* egyes törzsei PYRáz-negatívak.

Az O.B.I.S. reakciói. A PYR az enzimaktivitás markere, és esetenként előfordulhatnak atipikus törzsek.

Negatív reakciók esetén enyhe színváltozás alakulhat ki. Ez az inokulálás közvetlen helyére korlátozódik. Az értelmezés megkönnyítése érdekében hivatkozzon a pozitív és negatív kontrollokra.

A PYR fejlesztőoldat hozzáadását követő 20 másodpercen túli inkubálás nem specifikus színreakciókat eredményezhet. Ezért fontos, hogy a tesztet a jelzett módon olvassa le.

HIVATKOZÁSOK

- Ellner, P. D., Williams, D. A., Hosmer, M. E. and Cohenford, M. (1985). Preliminary evaluation of a rapid colorimetric method for the presumptive identification of Group A streptococci and enterococci. J. Clin. Microbiol. 22. 880–881.
- Facklam, R. R., Padula, J. F., Thacker, L. G., Wortham, E. C. and Sconyers, B. J. (1974). Presumptive identification of Group A, B and D streptococci. Appl. Microbiol. 27. 107–109.
- Chagla, A. H., Borczyk, A. A., Aldom, J. E., Dalla Rosa, S. and Cole, D. D. (1993). Evaluation of the L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide hydrolysis test for differentiation of members of the families Enterobacteriaceae and Vibrionaceae. J. Clin. Microbiol. 31. 1946–1948.
- Bennett, A. R., MacPhee, S., Betts, R. and Post, D. (1999). Use of the enzyme pyrrolidonyl peptidase (Oxoid PYR test) to distinguish *Citrobacter* from *Salmonella* isolated from foods. Letters in Applied Microbiology. 28. 175–178.
- Bascomb, S. and Manafi, M. (1988). Use of enzyme tests in the characterisation and identification of aerobic and facultatively anaerobic Gram-Positive cocci. Clinical Microbiology Reviews 11. 318–340.
- Data on file at Oxoid.
- Carroll K. C. et al. Manual of Clinical Microbiology, 12th Edition, 2019. ASM Press, Washington, D.C. USA.

SZIMBÓLUM-MAGYARÁZAT	
	Katalógusszám
	<i>In vitro</i> diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Tételkód (tételszám)
	Hőmérsékleti korlátozások (tárolási hőmérséklet)
	Felhasználhatósági idő (lejárat dátum)
	Ne használja fel újra
	Tájékoztódjon a használati utasításból (IFU)
	Ne használja, ha a csomagolás sérült
	Elegendőt tartalmaz <n> vizsgálathoz
	Gyártó
	Európai meghatalmazott képviselő
	Brit megfelelőséggel rendelkezik
	CE-jelölés



IFU X5916C 2022-09-05 Nyomtatva az Egyesült Királyságban

 Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW,
Egyesült Királyság

Műszaki segítségért forduljon a helyi forgalmazóhoz.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Minden jog fenntartva.

Az ATCC és az ATCC katalógusjel az American Type Culture Collec-
tion védjegye.

Minden más védjegy a Thermo Fisher Scientific Inc. és leányvál-
lalatai tulajdonát képezi.



Key Code TSMX5916C
www.thermofisher.com

Europa +800 135 79 135 US 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Oxoid™ Biochemical Identification System (O.B.I.S.) PYR

REF ID0580M.....▽60

USO PREVISTO

O.B.I.S. PYR è un test colorimetrico, qualitativo e rapido per la rilevazione dell'attività della PYRasi in streptococchi e *Citrobacter* spp. coltivati in terreno su piastra. Il dispositivo è utilizzato in un flusso di lavoro diagnostico per facilitare i medici nelle potenziali opzioni di trattamento per i pazienti con sospette infezioni batteriche.

Il dispositivo non è automatizzato, è solo per uso professionale e non da considerarsi un test diagnostico di accompagnamento.

PRINCIPIO DEL TEST

L'attività di PYRasi distingue gli streptococchi e gli enterococchi di gruppo A da altri gruppi di streptococchi inclusi quelli di gruppo D (precedentemente detti streptococchi fecali)^{1,2}, offrendo così una rapida alternativa diagnostica ai metodi di coltura che richiedono tempo. Inoltre, la stessa attività enzimatica può essere utilizzata per favorire la differenziazione di *Salmonella* spp. da *Citrobacter* spp. e altre Enterobacteriaceae^{3,4}.

Alcuni test di PYRasi incorporano altri substrati cromogeni, come le β-naftilammidi. Questi forniscono prestazioni diagnostiche simili, ma devono essere maneggiati e smaltiti con cura a causa della loro potenziale tossicità⁵.

Il test O.B.I.S. PYR utilizza cartoncini di reazione impregnati di acido L-pirolglutammino 7-ammido-4-metilcumarina e una soluzione di sviluppo contenente dimetilamminocinnamaldeide. L'idrolisi enzimatica di questo substrato da parte di enterococchi, streptococchi di gruppo A e *Citrobacter* spp. produce un colore viola dopo l'aggiunta della PYR Developing Solution⁶.

COMPONENTI DEL KIT (ID0580M)

Ogni kit O.B.I.S. PYR contiene i seguenti reagenti, sufficienti per 60 test:

- ID0581M** PYR Test Cards: 1 sacchetto contenente 10 cartoncini e una bustina assorbente l'umidità. Ci sono 6 aree di reazione al test su ogni cartoncino. 60 test in totale. Ogni cartoncino di reazione è impregnato di acido L-pirolglutammino 7-ammido-4-metilcumarina.
- ID0200M** PYR Developing Solution: 1 flacone contagocce contenente 7 ml di acido cloridrico 1 M e 0,5% p/v di dimetilamminocinnamaldeide
- ID0100M** Buffer: 1 flacone contagocce contenente 7 ml di PBS (Phosphate Buffered Saline)

Istruzioni per l'uso (IFU)

Materiali richiesti ma non forniti

Anse da inoculo microbiologico in plastica.

PRECAUZIONI

Questo prodotto è solo per uso diagnostico *in vitro*.

Non utilizzare i reagenti O.B.I.S. PYR oltre la data di scadenza.

I materiali dei campioni possono contenere organismi patogeni e devono pertanto essere maneggiati con le opportune precauzioni.

La PYR Developing Solution (ID0200M) contiene un acido debole. Evitare il contatto diretto indossando adeguati dispositivi di protezione. Se il materiale viene a contatto con la pelle, le mucose o gli occhi, lavare immediatamente l'area risciacquando abbondantemente con acqua. Smaltire i cartoncini di reazione e le anse da inoculo usati come rifiuti a rischio biologico e incenerirli o sterilizzarli in autoclave per 15 minuti a 121 °C.

Fare riferimento alla scheda relativa ai dati di sicurezza (SDS) sul sito web dell'azienda e all'etichettatura del prodotto per informazioni sui componenti potenzialmente pericolosi.

Leggere e attenersi scrupolosamente alle istruzioni.

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui risiedono l'utilizzatore e/o il paziente.

In caso di malfunzionamento, non utilizzare il dispositivo.

CONSERVAZIONE E APERTURA

Il kit deve essere conservato a 2-8 °C. Lasciare che i sacchetti raggiungano la temperatura ambiente prima dell'apertura per evitare la formazione di condensa sui cartoncini di reazione.

Aprire i sacchetti tagliando con le forbici tra il sigillo all'estremità del sacchetto e la chiusura lampo.

Una volta aperto, rimuovere il numero di cartoncini di reazione necessari per il test entro i successivi 10 minuti e richiudere immediatamente il sacchetto. Se sono necessari meno test, tagliare il cartoncino e rimettere la parte non utilizzata nel sacchetto. Non rimettere le parti usate nel sacchetto perché in queste condizioni saranno contaminate.

Se conservati come descritto, i reagenti manterranno la loro attività fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

PROCEDURA DI CONTROLLO QUALITÀ

Eseguire le procedure di controllo seguenti ogni giorno in cui si utilizza il kit:

- Controllo positivo** - Utilizzare un ceppo PYRasi positivo noto come *Enterococcus faecalis* ATCC™ 29212 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607030), *Streptococcus pyogenes* ATCC™ 19615 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607000) o *Citrobacter freundii* ATCC™ 8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800). Seguire il metodo indicato nella procedura di test. Assicurarsi che si formi un colore viola entro 20 secondi.
- Controllo negativo** - Utilizzare un ceppo PYRasi negativo noto come *Streptococcus agalactiae* ATCC™ 13813 o *Salmonella enteritidis* ATCC™ 13706 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Seguire il metodo indicato nella procedura di test. Assicurarsi che non si formi alcun colore viola entro 20 secondi.

Non utilizzare i reagenti in presenza di reazioni non appropriate con gli organismi di controllo.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Per i dettagli sulla raccolta e il trattamento dei campioni consultare un libro di testo standard⁷.

Quando si identificano enterococchi e streptococchi di gruppo A:

Culture primarie o secondarie fresche coltivate durante la notte su terreni non selettivi come agar sangue danno i migliori risultati. Le colonie testate devono essere cocchi Gram-positivi e catalasi-negativi. In caso di crescita insufficiente, eseguire una subcoltura.

Con identificazione di *Citrobacter* spp. da *Salmonella* spp. ed Enterobacteriaceae:

Possono essere utilizzate colonie da terreni non selettivi o terreni selettivi (come XLD Medium, MLCB Agar, MacConkey Agar, Desoxycholate Citrate Agar, Salmonella Shigella Agar, Brilliant Green Agar o Hektoen Enteric Agar (procedura del test modificata richiesta - vedere di seguito)). Le piastre devono essere testate entro un massimo di un'ora dalla rimozione dall'incubatrice.

Le colonie dovrebbero essere Gram-negative, ossidasi-negative e ureasi-negative⁷.

PROCEDURA DEL TEST

- Applicare una colonia sospetta (0,5 mm o più grande) sull'area del test utilizzando un'ansa di plastica (sufficiente per creare uno striscio visibile).
- Inumidire l'area del test con 1 goccia di tampone (ID0100M).
- Incubare il cartoncino di reazione inoculato a temperatura ambiente (15-30 °C) per 5 minuti.
- Dispensare 1 goccia di PYR Developing Solution (ID0200M) sull'area del test. Lo sviluppo di un vivido colore viola sopra e intorno alle colonie entro 20 secondi conferma l'attività di PYRasi.

LETTURA E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Risultato positivo

Un risultato positivo è indicato dallo sviluppo di un vivido colore viola nella parte inoculata dell'area del test entro 20 secondi dall'aggiunta della soluzione di sviluppo.

Risultato negativo

Un risultato negativo è indicato dall'assenza di sviluppo di colore nella parte inoculata dell'area del test entro 20 secondi dall'aggiunta della soluzione di sviluppo.

PROCEDURA DEL TEST MODIFICATA - HEKTOEN ENTERIC AGAR

- Applicare una colonia sospetta (0,5 mm o più grande) sull'area del test utilizzando un'ansa di plastica (sufficiente per creare uno striscio visibile).
- Inumidire l'area del test con una goccia di soluzione tampone (ID0100M).
- Mettere il cartoncino inoculato in un sacchetto/busta di plastica adatti (circa 75 mm x 100 mm).
- Incubare a 37 °C ± 2 °C per 30 minuti.
- Dispensare una goccia di PYR Developing Solution (ID0200M) sull'area del test. Lo sviluppo di un vivido colore viola sopra e intorno alle colonie strisciate entro 20 secondi conferma l'attività di PYRasi. (Il colore viola può essere leggermente oscurato dalla pigmentazione nera del solfuro ferroso se viene selezionata una colonia nera.)
- Una reazione negativa è indicata da nessun cambiamento di colore dello striscio di inoculo.
- Lo sviluppo di un colore verdastro entro un minuto è considerato una reazione PYR negativa ed è dovuto alla presenza di indolo. Questi organismi non sono *Salmonella* spp.

Tabella di interpretazione

RISULTATI ATTESI		
Organismo	Reattività con	
	Gruppo Lancefield	O.B.I.S. PYR
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	—
<i>Streptococcus gruppo C</i>	C	—
<i>Streptococcus bovis</i>	D	—
<i>Enterococcus faecalis</i>	D	+
<i>Enterococcus faecium</i>	D	+
<i>Streptococcus gruppo F</i>	F	—
<i>Streptococcus gruppo G</i>	G	—
<i>Citrobacter</i>	—	+
<i>Salmonellae</i>	—	—
<i>Escherichia coli</i>	—	—

LIMITAZIONI DEL TEST

O.B.I.S. PYR è destinato alla rilevazione dell'attività della PYRasi in cocchi Gram-positivi, catalasi-negativi e *Citrobacter* spp.

Gli isolati meno comuni di lattococchi e aerococchi possono essere PYRasi positivi. La conferma di enterococchi o streptococchi di gruppo A può essere ottenuta mediante raggruppamento sierologico con un test adeguato, ad esempio Oxoid Streptococcal Grouping Kit (DR0595A).

Alcuni ceppi di *Enterobacter cloacae* sono PYRasi negativi.

Le reazioni con O.B.I.S. PYR sono un marker dell'attività enzimatica e occasionalmente possono verificarsi ceppi atipici.

Un leggero cambiamento di colore può svilupparsi con reazioni negative. Questo è limitato al sito immediato di inoculazione. Fare riferimento ai controlli positivi e negativi per facilitare l'interpretazione.

L'incubazione oltre i 20 secondi dopo l'aggiunta della soluzione di sviluppo PYR può produrre reazioni di colore non specifiche. È quindi importante che il test venga letto come indicato.

BIBLIOGRAFIA

- Ellner, P. D., Williams, D. A., Hosmer, M. E. and Cohenford, M. (1985). Preliminary evaluation of a rapid colorimetric method for the presumptive identification of Group A streptococci and enterococci. J. Clin. Microbiol. 22. 880–881.
- Facklam, R. R., Padula, J. F., Thacker, L. G., Wortham, E. C. and Sconyers, B. J. (1974). Presumptive identification of Group A, B and D streptococci. Appl. Microbiol. 27. 107–109.
- Chagla, A. H., Borczyk, A. A., Aldom, J. E., Dalla Rosa, S. and Cole, D. D. (1993). Evaluation of the L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide hydrolysis test for differentiation of members of the families Enterobacteriaceae and Vibrionaceae. J. Clin. Microbiol. 31. 1946–1948.
- Bennett, A. R., MacPhee, S., Betts, R. and Post, D. (1999). Use of the enzyme pyrrolidonyl peptidase (Oxoid PYR test) to distinguish *Citrobacter* from *Salmonella* isolated from foods. Letters in Applied Microbiology. 28. 175–178.
- Bascomb, S. and Manafi, M. (1988). Use of enzyme tests in the characterisation and identification of aerobic and facultatively anaerobic Gram-Positive cocci. Clinical Microbiology Reviews 11. 318–340.
- Data in archivio presso Oxoid.
- Carroll K. C. et al. Manual of Clinical Microbiology, 12th Edition, 2019. ASM Press, Washington, D.C. USA.

LEGENDA DEI SIMBOLI	
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Codice lotto (numero di lotto)
	Limiti di temperatura (temp. di conservazione)
	Usare entro (data di scadenza)
	Non riutilizzare
	Consultare le istruzioni per l'uso (IFU)
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata
	Contiene una quantità sufficiente per <n> test
	Prodotto da
	Rappresentante europeo autorizzato
	Valutazione di conformità UK
	Marchio CE



IFU X5916C 2022-09-05 Stampato nel Regno Unito

 Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK

Per assistenza tecnica, contattare il proprio distributore locale.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Tutti i diritti riservati.

ATCC e i marchi del catalogo ATCC sono un marchio di American Type Culture Collection.

Tutti gli altri marchi sono di proprietà di Thermo Fisher Scientific Inc. e delle sue consociate.



Kod klucza TSMX5916C
www.thermofisher.com

Europa + 800 135 79 135 USA 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 Inne kraje +31 20 794 7071

Oxoid™ Biochemical Identification System (O.B.I.S.) PYR

REF ID0580M.....▼ 60

PRZEZNACZENIE

O.B.I.S. PYR to szybki, jakościowy, kolorymetryczny test do wykrywania aktywności PYRazy u paciorkowców i dla gatunku *Citrobacter* hodowanych na podłożach posiewowych. Wyrób jest wykorzystywany w procesie diagnostycznym, aby pomóc klinicystom w określaniu możliwych metod leczenia pacjentów z podejrzeniem infekcji bakteryjnych.

Wyrób nie jest zautomatyzowany, jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego i nie stanowi narzędzia do diagnostyki towarzyszącej.

ZASADA BADANIA

Aktywność PYRase odróżnia paciorkowce grupy A i enterokoki od innych grup paciorkowców, w tym paciorkowców grupy D (wcześniej nazywanych paciorkowcami kałowymi)^{1,2}, oferując w ten sposób szybką diagnostyczną alternatywę dla czasochłonnych metod hodowlanych. Ponadto ta sama aktywność enzymatyczna może być użyta, aby pomóc w odróżnieniu gatunku *Salmonella* od gatunku *Citrobacter* i innych gatunków Enterobacteriaceae^{3,4}.

Niektóre testy PYRase zawierają inne substraty chromogenne takie jak β-naftyloamidy. Zapewniają one podobną skuteczność diagnostyczną, ale należy się z nimi obchodzić i je usuwać z ostrożnością ze względu na ich potencjalną toksyczność⁵.

Test O.B.I.S. PYR wykorzystuje karty testowe nasycone 7-amido-4-metylokumaryną kwasu L-pirolglutaminowego oraz roztwór wywołujący zawierający aldehyd dimetyloaminocynamonowy. Hydrolizie enzymatycznej tego substratu przez enterokoki, paciorkowce grupy A i gatunek *Citrobacter* towarzyszy wytwarzanie fioletowego koloru po dodaniu roztworu rozwijającego PYR⁶.

KOMPONENTY ZESTAWU (ID0580M)

Każdy zestaw O.B.I.S. PYR zawiera następujące odczynniki, wystarczające na 60 testów:

- | | |
|----------------|--|
| ID0581M | Karty testowe PYR: 1 torebka zawierająca 10 kart i szaszkę pochłaniającą wilgoć. Na każdej karcie znajduje się 6 obszarów reakcji testowych. łącznie 60 testów. Każda karta testowa jest impregnowana 7-amido-4-metylokumaryną kwasu L-pirolglutaminowego. |
| ID0200M | Roztwór rozwijający PYR — 1 butelka z zakraplaczem zawierająca 7 ml 1M kwasu solnego i 0,5% w/v aldehydu dimetyloaminocynamonowego |
| ID0100M | Bufor — 1 butelka z zakraplaczem zawierająca 7 ml PBS (sól fizjologiczna buforowana fosforanem) |

Instrukcja użytkowania

Materiały wymagane, ale niedostarczone

Plastikowe ezy do zaszczepiania mikrobiologicznego.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Ten produkt jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

Nie używać odczynników testu O.B.I.S. PYR po upływie terminu ważności.

Materiał próbek może zawierać organizmy chorobotwórcze, należy obchodzić się z nim z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności.

Roztwór rozwijający PYR (ID0200M) zawiera słaby kwas. Należy unikać bezpośredniego kontaktu poprzez nośzenie odpowiedniego sprzętu ochrony osobistej. W razie kontaktu materiału ze skórą, błoną śluzową lub oczami natychmiast umyć daną okolicę dużą ilością wody. Zużyte karty testowe i ezy do pobierania należy usuwać jako odpady niebezpieczne biologicznie i spalać lub sterylizować w autoklawie przez 15 minut w temperaturze 121°C.

Informacje na temat potencjalnie niebezpiecznych składników można znaleźć w Karcie Charakterystyki Substancji Niebezpiecznych (SDS) na stronie internetowej firmy oraz na etykietach produktów.

Należy uważnie przeczytać instrukcje i postępować zgodnie z nimi.

Każde poważne zdarzenie, które miało miejsce w związku z wyrobem, należy zgłaszać producentowi i odpowiedniemu organowi państwa członkowskiego właściwemu użytkownikowi i/lub pacjentowi.

W przypadku niewłaściwego działania nie używać wyrobu.

PRZECZYSZCZANIE I OTWIERANIE

Ten zestaw należy przechowywać w temperaturze 2–8°C. Przed otwarciem pozostawić woreczki do osiągnięcia temperatury pokojowej, aby zapobiec kondensacji pary wodnej na kartach testowych.

Otworzyć woreczki, przecinając nożyczkami między uszczelką na końcu woreczka a uszczelką z zamkiem błyskawicznym.

Po otwarciu wyjąć wymaganą do badania liczbę kart testowych w ciągu następnych 10 minut i natychmiast ponownie zamknąć woreczek. Jeśli wymagana jest mniejsza liczba testów, odciąć kartę testową i włożyć niewykorzystane części do woreczka. Nie zwracać zużytych porcji do woreczka, ponieważ w tych warunkach zostaną one skażone.

Przechowywane zgodnie ze wskazaniem, odczynniki zachowują swoją aktywność do daty ważności podanej na opakowaniu.

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI

Każdego dnia używania zestawu należy wykonać następującą procedurę kontrolną:

- Kontrola dodatnia** — Użyć znanego szczepu PYRase-dodatniego takiego jak *Enterococcus faecalis* ATCC™ 29212 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607030), *Streptococcus pyogenes* ATCC™ 19615 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607000) lub *Citrobacter freundii* ATCC™ 8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800). Postępować zgodnie z metodą podaną w procedurze testowej. Upewnić się, że w ciągu 20 sekund tworzy się fioletowy kolor.
- Kontrola ujemna** — Użyć znanego szczepu PYRase-ujemnego takiego jak *Streptococcus agalactiae* ATCC™ 13813 lub *Salmonella enteritidis* ATCC™ 13706 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Postępować zgodnie z metodą podaną w procedurze testowej. Upewnić się, że w ciągu 20 sekund nie tworzy się fioletowy kolor.

Nie stosować odczynników, jeśli reakcje z organizmami kontrolnymi są nieprawidłowe.

POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

W celu uzyskania szczegółowych informacji na temat pobierania próbek i obchodzenia się z nimi należy zapoznać się ze standardowym podręcznikiem⁷.

Podczas identyfikacji enterokoków i paciorkowców grupy A:

Najlepsze wyniki dają świeże pierwotne lub wtórne kultury hodowane przez noc na nieselektywnych podłożach, takich jak agar z krwią. Badane kolonie muszą być ziarniakami Gram-dodatnimi i katalazo-ujemnymi. W przypadku niedostatecznego wzrostu należy wykonać podhodowę.

Podczas identyfikacji gatunku *Citrobacter* z gatunku *Salmonella* i Enterobacteriaceae:

Można użyć kolonii z pożywek nieselektywnych lub pożywek selektywnych (takich jak pożywka XLD, agar MLCB, agar MacConkeya, agar deoksycholanolowo-cytrynowy, agar *Salmonella* Shigella, agar z zielenią brylantową lub agar dla bakterii jelitowych Hektoen (wymagana zmodyfikowana procedura testu — patrz poniżej)). Płytki należy testować maksymalnie godzinę po wyjściu z inkubatora.

Kolonie powinny być Gram-ujemne, oksydazo-ujemne i ureazo-ujemne⁷.

PROCEDURA TESTOWA

- Należy jedną podejrzaną kolonię (0,5 mm lub większą) na obszar testowy za pomocą plastikowej ezy (wystarczającej, aby uzyskać widoczny rozmaz).
- Zwiliżyć obszar testowy 1 kroplą buforu (ID0100M).
- Inkubować inokulowaną kartę testową w temperaturze pokojowej (15–30°C) przez 5 minut.
- Dodać 1 kroplę roztworu rozwijającego PYR (ID0200M) na obszar testowy. Pojawienie się w ciągu 20 sekund intensywnie fioletowego koloru na i wokół rozmazanej kolonii potwierdza aktywność PYRase.

ODCZYT I INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wynik dodatni

Wynik dodatni jest wskazywany przez pojawienie się intensywnego fioletowego koloru w zaszczepionej części obszaru testowego w ciągu 20 sekund po dodaniu roztworu rozwijającego.

Wynik ujemny

Wynik ujemny jest wskazywany przez brak koloru w zaszczepionej części obszaru testowego w ciągu 20 sekund po dodaniu roztworu rozwijającego.

ZMODYFIKOWANA PROCEDURA TESTOWA — AGAR DLA BAKTERII JELITOWYCH HEKTOEN

- Należy jedną podejrzaną kolonię (0,5 mm lub większą) na obszar testowy za pomocą plastikowej ezy (wystarczającej, aby uzyskać widoczny rozmaz).
- Zwiliżyć obszar testowy jedną kroplą roztworu buforowego (ID0100M).
- Umieścić zaszczepioną kartę w odpowiedniej plastikowej torbie/ koszulce (około 75 mm X 100 mm).
- Inkubować w 37°C±2°C przez 30 minut.
- Dodać jedną kroplę roztworu rozwijającego PYR (ID0200M) na obszar testowy. Pojawienie się w ciągu 20 sekund intensywnie fioletowego koloru na i wokół rozmazanej kolonii potwierdza aktywność PYRase. (Fioletowy kolor może być nieco przyćmiony czarną pigmentacją siarczku żelazawego, jeśli wybrano czarną kolonię).
- Reakcja ujemna oznacza brak zmiany koloru rozmazu z inokulum.
- Pojawienie się zielonkawego zabarwienia w ciągu jednej minuty jest uważane za ujemną reakcję PYR i jest spowodowane obecnością indolu. Te organizmy nie należą do gatunku *Salmonella*.

Tabela interpretacji

OCZEKIWANE REZULTATY		
Organizm	Reaktywność	
	Grupa Lancefield	O.B.I.S. PYR
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	—
Grupa <i>Streptococcus</i> C	C	—
<i>Streptococcus bovis</i>	D	—
<i>Enterococcus faecalis</i>	D	+
<i>Enterococcus faecium</i>	D	+
Grupa <i>Streptococcus</i> F	F	—
Grupa <i>Streptococcus</i> G	G	—
<i>Citrobacter</i>	—	+
<i>Salmonellae</i>	—	—
<i>Escherichia coli</i>	—	—

OGRANICZENIA TESTU

Test O.B.I.S. PYR jest przeznaczony do wykrywania aktywności PYRazy w Gram-dodatnich, katalazo-ujemnych ziarniakach i gatunku *Cytrbakterie*.

Rzadziej spotykane izolaty lactococci i aerococci mogą być PYRase-dodatnie. Potwierdzenie obecności enterokoków lub paciorkowców grupy A można uzyskać poprzez grupowanie serologiczne odpowiednim testem, np. zestawem Oxoid do grupowania gatunku Streptococcal (DR0595A).

Niektóre szczepy *Enterobacter cloacae* są ujemne pod względem PYRazy.

Reakcje z testem O.B.I.S. PYR są markerem aktywności enzymatycznej i czasami mogą wystąpić nietypowe szczepy.

Niewielka zmiana koloru może wystąpić w przypadku reakcji ujemnych. Ogranicza się to do bezpośredniego miejsca zaszczepienia. Aby ułatwić interpretację, należy zapoznać się z kontrolami dodatnimi i ujemnymi.

Inkubacja przez ponad 20 sekund po dodaniu roztworu rozwijającego PYR może wywołać nieswoiste reakcje barwne. Dlatego ważne jest, aby test był odczytywany zgodnie z opisem.

PIŚMIENNICTWO

- Ellner, P. D., Williams, D. A., Hosmer, M. E. and Cohenford, M. (1985). Preliminary evaluation of a rapid colorimetric method for the presumptive identification of Group A streptococci and enterococci. J. Clin. Microbiol. 22. 880–881.
- Facklam, R. R., Padula, J. F., Thacker, L. G., Wortham, E. C. and Sconyers, B. J. (1974). Presumptive identification of Group A, B and D streptococci. Appl. Microbiol. 27. 107–109.
- Chaglia, A. H., Borczyk, A. A., Aldom, J. E., Dalla Rosa, S. and Cole, D. D. (1993). Evaluation of the L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide hydrolysis test for differentiation of members of the families Enterobacteriaceae and Vibrionaceae. J. Clin. Microbiol. 31. 1946–1948.
- Bennett, A. R., MacPhee, S., Betts, R. and Post, D. (1999). Use of the enzyme pyrrolidonyl peptidase (Oxoid PYR test) to distinguish *Citrobacter* from *Salmonella* isolated from foods. Letters in Applied Microbiology. 28. 175–178.
- Bascomb, S. and Manafi, M. (1988). Use of enzyme tests in the characterisation and identification of aerobic and facultatively anaerobic Gram-Positive cocci. Clinical Microbiology Reviews 11. 318–340.
- Dane z badań własnych Oxoid.
- Carroll K. C. et al. Manual of Clinical Microbiology, 12th Edition, 2019. ASM Press, Washington, D.C. USA.

LEGENDA SYMBOLI

	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Kod partii (numer serii)
	Ograniczenia temperatury (temp. przechowywania)
	Użyć przed (termin ważności)
	Nie używać ponownie
	Zapoznać się z instrukcją użytkowania
	Nie używać w przypadku uszkodzonego opakowania
	Zawartość wystarcza na <n> testów
	Wyprodukowano przez
	Autoryzowany przedstawiciel w Europie
	Oceniono zgodność w Wielkiej Brytanii
	Znak CE



IFU X5916C 2022-09-05 Wydrukowano w Wielkiej Brytanii

 Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Wielka Brytania

Aby uzyskać pomoc techniczną, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

Znaki katalogowe ATCC i ATCC są znakiem towarowym American Type Culture Collection.

Wszystkie inne znaki towarowe są własnością Thermo Fisher Scientific Inc. i jej spółek zależnych.



Código-chave TSMX5916C
www.thermofisher.com

Europa +800 135 79 135 EUA 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 RDM +31 20 794 7071

Oxoid™ Biochemical Identification System (O.B.I.S.) PYR

PT

REF ID0580M.....V60

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O O.B.I.S. PYR é um teste colorimétrico rápido, qualitativo, para a deteção da atividade de PYRase em estreptococos e *Citrobacter* spp. cultivados em meios em placas. O dispositivo é utilizado num procedimento de diagnóstico para ajudar os médicos a determinar as opções de tratamento para os doentes com suspeita de infeções bacterianas.

O dispositivo não é automatizado, destina-se exclusivamente a utilização profissional e não consiste num meio de diagnóstico complementar.

PRINCÍPIO DO TESTE

A atividade da PYRase distingue os estreptococos e enterococos do Grupo A de outros grupos estreptocócicos, incluindo os estreptococos do Grupo D (anteriormente chamados estreptococos fecais),^{1,2} oferecendo assim uma alternativa de diagnóstico rápido para métodos de cultura demorados. Além disso, a mesma atividade enzimática pode ser utilizada para auxiliar na diferenciação de *Salmonella* spp. em relação a *Citrobacter* spp. e outras Enterobacteriaceae.^{3,4}

Alguns testes de PYRase incorporam outros substratos cromogénicos, como as β-naftilamidas. Estes oferecem um desempenho diagnóstico semelhante, mas devem ser manuseados e eliminados com cuidado devido à sua potencial toxicidade.⁵

O teste O.B.I.S. PYR utiliza cartões de teste impregnados com ácido L-pirolglutâmico 7-amido-4-metilcumarina e uma solução reveladora com dimetilaminocinamaldeído. A hidrólise enzimática deste substrato por enterococos, estreptococos do Grupo A e *Citrobacter* spp. produz uma cor roxa após a adição da Solução reveladora PYR.⁶

COMPONENTES DO KIT (ID0580M)

Cada kit de O.B.I.S. PYR contém os seguintes reagentes, suficientes para 60 testes:

ID0581M	Cartões de teste PYR: 1 bolsa com 10 cartões e uma saqueta de absorção de humidade. Existem 6 áreas de reação de teste em cada cartão. 60 testes no total. Cada cartão de teste é impregnado com ácido L-pirolglutâmico 7-amido-4-metilcumarina.
ID0200M	Solução de revelação PYR - 1 frasco conta-gotas com 7 ml de ácido clorídrico 1 M e dimetilaminocinamaldeído a 0,5 % p/v
ID0100M	Tampão – 1 frasco conta-gotas com 7 ml de PBS (solução salina tamponada com fosfato)

Instruções de utilização (IFU)

Materiais necessários, mas não fornecidos

Ansas de inoculação microbiológica em plástico.

PRECAUÇÕES

Este produto destina-se a utilização apenas em diagnóstico *in vitro*.

Não utilize reagentes O.B.I.S. PYR fora do prazo de validade.

O material das amostras pode conter microrganismos patogénicos; manusear com as devidas precauções.

A Solução de revelação PYR (ID0200M) contém um ácido fraco. Evite o contacto direto utilizando equipamento de proteção adequado. Se o material entrar em contacto com a pele, mucosas ou olhos, lave imediatamente a área com água em abundância. Os cartões de teste e as ansas de inoculação utilizados devem ser eliminados como resíduos de perigo biológico e incinerados ou autoclavados durante 15 minutos a 121 °C.

Consulte a Ficha de Dados de Segurança do Material (SDS) no site da empresa e as etiquetas do produto para obter informações sobre componentes potencialmente perigosos.

As instruções devem ser lidas e seguidas com cuidado.

Qualquer ocorrência de um incidente grave relacionada com o dispositivo deverá ser comunicada ao fabricante e à autoridade competente do estado-membro em que o utilizador e/ou doente reside.

Em caso de avaria, não utilizar o dispositivo.

ARMAZENAMENTO E ABERTURA

Este kit deve ser armazenado a 2–8 °C. Deixe as bolsas atingirem a temperatura ambiente antes de as abrir para evitar a formação de condensação nos Cartões de teste.

Abra as bolsas cortando com uma tesoura entre o selo na extremidade da bolsa e o selo do fecho de correr.

Uma vez aberta, retire o número de Cartões de teste necessários para teste nos próximos 10 minutos e feche a bolsa imediatamente. Se forem necessários menos testes, corte o Cartão de teste e volte a guardar as porções não utilizadas na bolsa. Não volte a guardar porções utilizadas na bolsa porque nessas condições serão contaminadas.

Os reagentes, quando armazenados conforme indicado, conservarão a sua atividade até a data de validade indicada na caixa.

PROCEDIMENTO DE CONTROLO DE QUALIDADE

Em cada dia que o kit for utilizado, deverão ser realizados os seguintes procedimentos de controlo:

- Controlo positivo** – Utilize uma estirpe positiva à PYRase conhecida, tal como, *Enterococcus faecalis* ATCC™ 29212 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607030), *Streptococcus pyogenes* ATCC™ 19615 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607000) ou *Citrobacter freundii* ATCC™ 8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800). Siga o método indicado no procedimento de teste. Certifique-se de que se forma uma cor roxa no prazo de 20 segundos.
- Controlo negativo** – Utilize uma estirpe negativa à PYRase conhecida, tal como, *Streptococcus agalactiae* ATCC™ 13813 ou *Salmonella enteritidis* ATCC™ 13706 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Siga o método indicado no procedimento de teste. Certifique-se de que não se forma nenhuma cor roxa no prazo de 20 segundos.

Não utilize os reagentes se as reações com os microrganismos de controlo estiverem incorretas.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Para obter detalhes sobre a colheita e o tratamento das amostras, deve ser consultado um manual de texto padrão.⁷

Ao identificar enterococos e estreptococos do Grupo A:

As culturas primárias ou secundárias frescas, desenvolvidas durante a noite em meios não seletivos como o ágar sangue, proporcionam os melhores resultados. As colónias testadas devem ser cocos Gram-positivos e negativas à catalase. Em caso de crescimento insuficiente, deve ser realizada uma subcultura.

Ao diferenciar *Citrobacter* spp. de *Salmonella* spp. e Enterobacteriaceae:

Podem ser utilizadas colónias de meios não seletivos ou seletivos (como Meio XLD, Ágar MLCB, Ágar MacConkey, Ágar de dexosicolato-citrato, Ágar Salmonella Shigella, Ágar verde Brilliant ou Ágar entérico Hektoen (necessitam de um procedimento de teste modificado; consulte abaixo). As placas devem ser testadas no máximo uma hora após serem retiradas da incubadora.

As colónias devem ser Gram-negativas, negativas à oxidase e positivas à urease.⁷

PROCEDIMENTO DE TESTE

- Aplique uma colónia suspeita (0,5 mm ou maior) na área de teste utilizando uma ansa de plástico (o suficiente para fazer um esfregaço visível).
- Humedeça a área de teste com 1 gota de Tampão (ID0100M).
- Incube o Cartão de teste inoculado à temperatura ambiente (15–30 °C) durante 5 minutos.
- Distribua 1 gota de Solução de revelação PYR (ID0200M) pela área de teste. O desenvolvimento de uma cor roxa intensa sobre e à volta das colónias no prazo de 20 segundos, confirma a atividade da PYRase.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Resultado positivo

Um resultado positivo é indicado pelo desenvolvimento de uma cor roxa intensa na parte inoculada da área de teste no prazo de 20 segundos após a adição da Solução de revelação.

Resultado negativo

Um resultado negativo é indicado pela falta de desenvolvimento da cor na parte inoculada da área de teste no prazo de 20 segundos após a adição da Solução de revelação.

PROCEDIMENTO DE TESTE MODIFICADO – ÁGAR ENTÉRICO HEKTOEN

- Aplique uma colónia suspeita (0,5 mm ou maior) na área de teste utilizando uma ansa de plástico (o suficiente para fazer um esfregaço visível).
- Humedeça a área de teste com uma gota de Solução tampão (ID0100M).
- Coloque o cartão inoculado num saco/manga de plástico adequado (aproximadamente 75 mm x 100 mm).
- Incube a 37 °C ± 2 °C durante 30 minutos.
- Distribua uma gota de Solução de revelação PYR (ID0200M) pela área de teste. O desenvolvimento de uma cor roxa intensa sobre e à volta da colónia espalhada no prazo de 20 segundos, confirma a atividade da PYRase. (A cor roxa pode ser ligeiramente obscurecida pela pigmentação preta do sulfeto ferroso se for selecionada uma colónia preta.)
- Uma reação negativa é denotada por nenhuma mudança na cor do esfregaço do inóculo.
- O desenvolvimento de uma cor esverdeada no prazo de um minuto é considerado uma reação negativa a PYR e deve-se à presença do indol. Estes microrganismos não são *Salmonella* spp.

Gráfico de interpretação

RESULTADOS ESPERADOS		
Microrganismo	Reatividade com	
	Grupo Lancefield	O.B.I.S. PYR
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	–
<i>Grupo Streptococcus C</i>	C	–
<i>Streptococcus bovis</i>	D	–
<i>Enterococcus faecalis</i>	D	+
<i>Enterococcus faecium</i>	D	+
<i>Grupo Streptococcus F</i>	F	–
<i>Grupo Streptococcus G</i>	G	–
<i>Citrobacter</i>	–	+
<i>Salmonellae</i>	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–

LIMITAÇÕES DO TESTE

O O.B.I.S. PYR destina-se à deteção de atividade de PYRase em cocos Gram-positivos, negativos à catalase e *Citrobacter* spp.

Alguns isolados menos frequentes de lactococos e aerococos podem ser positivos à PYRase. A confirmação de enterococos ou estreptococos do Grupo A pode ser obtida por agrupamento serológico com um teste adequado, por exemplo, Kit de agrupamento de estreptococos Oxoid (DR0595A).

Algumas estirpes de *Enterobacter cloacae* são negativas à PYRase.

As reações com O.B.I.S. PYR são um marcador de atividade enzimática e, ocasionalmente, podem ocorrer estirpes atípicas.

Pode desenvolver-se uma ligeira mudança de cor com as reações negativas. Isto é restrito ao local imediato da inoculação. Consulte os controlos positivo e negativo para auxiliar na interpretação.

A incubação para além de 20 segundos após a adição da Solução de revelação PYR pode produzir reações de cor não específicas. Por conseguinte, é importante que o teste seja lido conforme indicado.

REFERÊNCIAS

- Ellner, P. D., Williams, D. A., Hosmer, M. E. and Cohenford, M. (1985). Preliminary evaluation of a rapid colorimetric method for the presumptive identification of Group A streptococci and enterococci. J. Clin. Microbiol. 22. 880–881.
- Facklam, R. R., Padula, J. F., Thacker, L. G., Wortham, E. C. and Sconyers, B. J. (1974). Presumptive identification of Group A, B and D streptococci. Appl. Microbiol. 27. 107–109.
- Chagla, A. H., Borczyk, A. A., Aldom, J. E., Dalla Rosa, S. and Cole, D. D. (1993). Evaluation of the L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide hydrolysis test for differentiation of members of the families Enterobacteriaceae and Vibrionaceae. J. Clin. Microbiol. 31. 1946–1948.
- Bennett, A. R., MacPhee, S., Betts, R. and Post, D. (1999). Use of the enzyme pyrrolidonyl peptidase (Oxid PYR test) to distinguish *Citrobacter* from *Salmonella* isolated from foods. Letters in Applied Microbiology. 28. 175–178.
- Bascomb, S. and Manafi, M. (1988). Use of enzyme tests in the characterisation and identification of aerobic and facultatively anaerobic Gram-Positive cocci. Clinical Microbiology Reviews 11. 318–340.
- Dados em arquivo na Oxoid.
- Carroll K. C. et al. Manual of Clinical Microbiology, 12th Edition, 2019. ASM Press, Washington, D.C. USA.

LEGENDA DOS SÍMBOLOS	
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Código do lote (número do lote)
	Limites de temperatura (temperatura de armazenamento)
	Prazo de validade
	Não reutilizar
	Consultar as Instruções de utilização (IFU)
	Não utilizar se a embalagem estiver danificada
	Contém quantidade suficiente para <n> testes
	Fabricado por
	Mandatário na Europa
	Conformidade do Reino Unido avaliada
	Marca CE



IFU X5916C 2022-09-05 Impresso no Reino Unido

 Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Reino Unido

Para obter assistência técnica, contacte o seu distribuidor local.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Todos os direitos reservados.

ATCC e as marcas de catálogo ATCC são marcas comerciais da American Type Culture Collection.

Todas as outras marcas comerciais são propriedade da Thermo Fisher Scientific Inc. e respetivas subsidiárias.



Cod cheie TSMX5916C
www.thermofisher.com

Europa + 800 135 79 135 SUA 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Oxoid™ Biochemical Identification System (O.B.I.S.) PYR

REF ID0580M.....▽60

UTILIZARE PREVĂZUTĂ

O.B.I.S. PYR (Sistemul de identificare biochimică Oxoid PYR) este un test calitativ colorimetric rapid pentru detectarea activității enzimei PYRază la streptococi și *Citrobacter* spp. dezvoltate în medii pe plăci. Acest dispozitiv se folosește într-un flux de lucru de diagnosticare pentru a ajuta clinicienii să stabilească opțiunile de tratament în cazul pacienților suspecți de infecții bacteriene.

Dispozitivul nu este automatizat, este exclusiv de uz profesional și nu constituie un diagnostic complementar.

PRINCIPIUL DE TESTARE

Activitatea PYRase distinge streptococii de grup A și enterococii de alte grupe de streptococi, inclusiv streptococii de grup D (numiți anterior streptococi fecali)^{1,2}, oferind astfel o alternativă de diagnosticare rapidă la metodele de cultură consumatoare de timp. În plus, aceeași activitate enzimatică poate fi utilizată pentru a ajuta la diferențierea *Salmonella* spp. de *Citrobacter* spp. și alte Enterobacteriaceae^{3,4}.

Unele teste PYRase încorporează alte substraturi cromogene, cum ar fi β-naftilamidele. Acestea oferă performanțe de diagnosticare similare, dar trebuie manipulate și eliminate cu grijă din cauza toxicității lor potențiale⁵.

Testul O.B.I.S. PYR utilizează cartonașe de testare impregnate cu acid L-piroglutamic 7-amino-4-metilcumarină și o soluție de dezvoltare care conține dimetilaminocinamaldehydă. Hidroliza enzimatică a acestui substrat de către enterococi, streptococi de grupa A și *Citrobacter* spp. produce o culoare violet după adăugarea PYR Developing Solution⁶.

COMPONENTELE KITULUI (ID0580M)

Fiecare kit O.B.I.S. PYR conține următorii reactivi, suficienți pentru 60 de teste:

- ID0581M** Cartonașe de testare PYR: 1 pungă care conține 10 cartonașe și un plic cu absorbant de umezeală. Pe fiecare cartonaș, există 6 zone de reacție la test. 60 de teste în total. Fiecare cartonaș de testare este impregnat cu acid L-piroglutamic 7-amino-4-metilcumarină.
- ID0200M** Soluție de dezvoltare PYR – 1 flacon cu picurător, care conține 7 ml de acid clorhidric 1M și dimetilaminocinamaldehydă 0,5% w/v
- ID0100M** Tampon – 1 flacon cu picurător care conține 7 ml de PBS (soluție salină tamponată cu fosfat)

Instrucțiuni de utilizare (IFU)

Materiale necesare, dar nefurnizate

Anse de inoculare microbiologice din plastic.

MĂSURI DE PRECAUȚIE

Acest produs este destinat exclusiv diagnosticării *in vitro*.

Nu utilizați reactivii O.B.I.S. PYR după data de expirare.

Materialele probelor pot conține organisme patogene; manipulați cu măsurile de precauție corespunzătoare.

Soluția de dezvoltare PYR (ID0200M) conține un acid slab. Evitați contactul direct purtând echipament de protecție adecvat. Dacă materialul intră în contact cu pielea, mucoasele sau ochii, spălați imediat zona clătind cu multă apă. Cartonașele de testare utilizate și buclele de inoculare trebuie eliminate ca deșeurii periculoase și incinerate sau autoclavate timp de 15 minute la 121 °C.

Consultați Fișa cu date de securitate (STS) de pe site-ul web al companiei și eticheta produsului pentru informații despre componentele care pot fi periculoase.

Instrucțiunile trebuie citite și urmate cu atenție.

Orice incident grav survenit în legătură cu dispozitivul va fi raportat producătorului și autorității competente a Statului Membru în care utilizatorul și/sau pacientul își are reședința.

În cazul funcționării defectuoase, nu folosiți dispozitivul.

DEPOZITARE ȘI DESCHIDERE

Acest kit trebuie păstrat la 2–8 °C. Lăsați pungile să ajungă la temperatura camerei înainte de deschidere, pentru a preveni formarea condensului pe cartonașele de testare.

Deschideți pungile tăind cu foarfecele între sigiliul de la capătul pungii și sigiliul cu fermoar.

Odată deschis, scoateți numărul de cartonașele de testare necesar pentru testarea în următoarele 10 minute și resigilați imediat punga. Dacă sunt necesare mai puține teste, tăiați cartonașul de testare și puneți porțiunile neutilizate înapoi în pungă. Nu puneți porțiunile folosite înapoi în pungă, deoarece acestea vor fi contaminate în acest caz.

Când sunt păstrați conform indicațiilor, reactivii își vor păstra activitatea până la data de expirare indicată pe cutie.

PROCEDURĂ DE CONTROL AL CALITĂȚII

În fiecare zi în care se utilizează kitul, trebuie efectuate următoarele proceduri de control:

- Control pozitiv** – Utilizați o tulpină cunoscută pozitivă la PYRase, precum *Enterococcus faecalis* ATCC™ 29212 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607030), *Streptococcus pyogenes* ATCC™ 19615 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607000) sau *Citrobacter freundii* ATCC™ 8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800). Urmăriți metoda indicată în procedura de testare. Asigurați-vă că se formează o culoare violet în cel mult 20 de secunde.
- Control negativ** – Utilizați o tulpină despre care se știe că este negativă la PYRase, precum *Streptococcus agalactiae* ATCC™ 13813 sau *Salmonella enteritidis* ATCC™ 13706 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Urmăriți metoda indicată în procedura de testare. Asigurați-vă că nu se formează o culoare violet timp de 20 de secunde.

Nu utilizați reactivii dacă reacțiile la organismele de control sunt incorecte.

COLECTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBELOR

Pentru detalii despre colectarea și tratarea specimenelor, trebuie consultat un manual standard⁷.

La identificarea enterococilor și a streptococilor de grup A:

Culturile primare sau secundare proaspete, crescute peste noapte pe medii neselective, cum ar fi agarul sânge, dau cele mai bune rezultate. Coloniile testate trebuie să fie coci gram-pozitivi negativi după catalază. În caz de creștere insuficientă, trebuie efectuată o subcultură.

La identificarea *Citrobacter* spp. față de *Salmonella* spp. și Enterobacteriaceae:

Pot fi utilizate colonii din medii neselective sau medii selective (cum ar fi mediul XLD, agar MLCB, agar MacConkey, agar de citrat dezoxicolat, agar Shigella Salmonella, agar verde strălucitor sau agar enteric Hektoen (este necesară procedura de testare modificată – a se vedea mai jos)). Plăcile trebuie testate la maximum o oră după scoaterea din incubator.

Coloniile trebuie să fie gram-negative, negative după oxidază și negative la urează⁷.

PROCEDURA DE TESTARE

- Aplicați o colonie suspectă (de 0,5 mm sau mai mare) pe zona de testare folosind o ansă din plastic (suficient pentru a face un frotiu vizibil).
- Umeziți zona de testare cu 1 picătură de tampon (ID0100M).
- Incubați cartonașul de test inoculat la temperatura camerei (15–30 °C) timp de 5 minute.
- Distribuiți 1 picătură de soluție de dezvoltare PYR (ID0200M) pe zona de testare. Dezvoltarea unei culori violet viu pe colonii și în jurul acestora în 20 de secunde confirmă activitatea PYRase.

CITIREA ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Rezultat pozitiv

Un rezultat pozitiv este indicat de dezvoltarea unei culori violet viu în porțiunea inoculată a zonei de testare într-o perioadă de 20 de secunde după adăugarea soluției de dezvoltare.

Rezultat negativ

Un rezultat negativ este indicat de absența dezvoltării culorii în porțiunea inoculată a zonei de testare în perioada de 20 de secunde de după adăugarea soluției de dezvoltare.

PROCEDURA DE TESTARE MODIFICATĂ – AGAR ENTERIC HEKTOEN

- Aplicați o colonie suspectă (de 0,5 mm sau mai mare) pe zona de testare folosind o ansă din plastic (suficient pentru a face un frotiu vizibil).
- Umeziți zona de testare cu o picătură de soluție tampon (ID0100M).
- Puneți cartonașul inoculat într-o pungă de plastic adecvată (aproximativ 75 mm X 100 mm).
- Incubați la 37 °C ± 2 °C timp de 30 de minute.
- Distribuiți o picătură de soluție de dezvoltare PYR (ID0200M) pe zona de testare. Dezvoltarea unei culori violet viu pe și în jurul coloniilor testate în 20 de secunde confirmă activitatea PYRase. (Culoarea violet poate fi ușor ascunsă de pigmentarea neagră a sulfurii feroase dacă este selectată o colonie neagră.)
- O reacție negativă este indicată de absența oricărei schimbări a culorii frotiului de inocul.
- Dezvoltarea unei culori verzui în interval de un minut este considerată o reacție PYR negativă și se datorează prezenței indolului. Astfel de organisme nu sunt *Salmonella* spp.

Diagramă de interpretare

REZULTATE AȘTEPTATE		
Organism	Reactivitate cu	
	Gruparea Lancefield	O.B.I.S. PYR
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	–
Grupul <i>Streptococcus</i> C	C	–
<i>Streptococcus bovis</i>	D	–
<i>Enterococcus faecalis</i>	D	+
<i>Enterococcus faecium</i>	D	+
Grupul <i>Streptococcus</i> F	F	–
Grupul <i>Streptococcus</i> G	G	–
<i>Citrobacter</i>	–	+
<i>Salmonellae</i>	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–

LIMITĂRILE TESTULUI

O.B.I.S. PYR este destinat detectării activității enzimei PYRază în coci gram-pozitivi, negativi după catalază și în *Citrobacter* spp.

Unele izolate mai rar întâlnite de lactococi și aerococi pot fi pozitive pentru PYRază. Confirmarea enterococilor sau a streptococilor de grup A poate fi realizată prin gruparea serologică cu un test adecvat, de exemplu Kitul de grupare a streptococilor Oxoid (DR0595A).

Unele tulpini de *Enterobacter cloacae* sunt negative la PYRază.

Reacțiile cu O.B.I.S. PYR sunt un marker pentru activitatea enzimatică și pot apărea, ocazional, tulpini atipice.

O ușoară schimbare de culoare se poate dezvolta în reacțiile negative. Acest fenomen este limitat la locul inoculării. Consultați controalele pozitive și negative pentru a ajuta interpretarea.

Incubarea pe o perioadă mai lungă de 20 de secunde după adăugarea soluției de dezvoltare PYR poate produce reacții nespecifice de culoare. Prin urmare, este important ca testul să fie citit conform indicațiilor.

REFERINȚE

- Ellner, P. D., Williams, D. A., Hosmer, M. E. and Cohenford, M. (1985). Preliminary evaluation of a rapid colorimetric method for the presumptive identification of Group A streptococci and enterococci. J. Clin. Microbiol. 22. 880–881.
- Facklam, R. R., Padula, J. F., Thacker, L. G., Wortham, E. C. and Sconyers, B. J. (1974). Presumptive identification of Group A, B and D streptococci. Appl. Microbiol. 27. 107–109.
- Chagla, A. H., Borczyk, A. A., Aldom, J. E., Dalla Rosa, S. and Cole, D. D. (1993). Evaluation of the L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide hydrolysis test for differentiation of members of the families Enterobacteriaceae and Vibrionaceae. J. Clin. Microbiol. 31. 1946–1948.
- Bennett, A. R., MacPhee, S., Betts, R. and Post, D. (1999). Use of the enzyme pyrrolidonyl peptidase (Oxoid PYR test) to distinguish *Citrobacter* from *Salmonella* isolated from foods. Letters in Applied Microbiology. 28. 175–178.
- Bascomb, S. and Manafi, M. (1988). Use of enzyme tests in the characterisation and identification of aerobic and facultatively anaerobic Gram-Positive cocci. Clinical Microbiology Reviews 11. 318–340.
- Date din dosar de la Oxoid.
- Carroll K. C. et al. Manual of Clinical Microbiology, 12th Edition, 2019. ASM Press, Washington, D.C. USA.

LEGENDA SIMBOLURILOR	
	Număr de catalog
	Dispozitiv medical pentru diagnosticarea in vitro
	Codul lotului (numărul lotului)
	Limita de temperatură (temperatura de depozitare)
	Data expirării
	A nu se reutiliza
	Consultați instrucțiunile de utilizare (IFU)
	A nu se utiliza dacă ambalajul este deteriorat
	Conține o cantitate suficientă pentru <n> teste
	Producător
	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană
	Marcajul de conformitate pentru Regatul Unit
	Marcaj CE



IFU X5916C 2022-09-05 Tipărit în Regatul Unit

 Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK

Pentru asistență tehnică, vă rugăm să contactați distribuitorul local.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Toate drepturile rezervate.

Mărcile de catalog ATCC și ATCC sunt mărci comerciale ale American Type Culture Collection.

Toate celelalte mărci comerciale aparțin Thermo Fisher Scientific Inc. și subsidiarelor acesteia.



Kód dokumentu TSMX5916C
www.thermofisher.com

Európa +800 135 79 135 USA 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 Zvyšok sveta +31 20 794 7071

Biochemický identifikačný systém Oxoid™ (O.B.I.S.) PYR

REF ID0580M.....▽60

URČENÉ POUŽITIE

O.B.I.S. PYR je rýchly, kvalitatívny, kolorimetrický test na detekciu aktivity PYRázy v streptokokoch a druhu *Citrobacter* spp. kultivovaných na miskových médiách. Pomôcka sa používa v diagnostickom pracovnom postupe na pomoc lekárom pri určovaní možnosti liečby u pacientov s podozrením na bakteriálne infekcie.

Pomôcka nie je automatizovaná, je určená len na profesionálne použitie a nie je sprievodnou diagnostikou.

PRINCÍP TESTU

Aktivita PYRázy odlišuje streptokoky skupiny A a enterokoky od iných streptokokových skupín vrátane streptokokov skupiny D (v minulosti nazývaných fekálne streptokoky)^{1,2}, čím ponúka rýchlu diagnostickú alternatívu k časovo náročným kultivačným metódam. Okrem toho môže byť rovnaká enzymatická aktivita použitá na pomoc pri odlíšení druhu *Salmonella* spp. od druhu *Citrobacter* spp. a iných Enterobacteriaceae^{3,4}.

Niektoré PYRázové testy obsahujú ďalšie chromogénne substráty, ako sú β-naftylamidy. Tieto poskytujú podobný diagnostický výkon, ale malo by sa s nimi zaobchádzať a mali by sa likvidovať opatrne kvôli ich potenciálnej toxicite⁵.

Test O.B.I.S. PYR používa testovacie karty impregnované kyselinou L-pyroglutámovou, 7-amido-4-metylkumarínom a vyvíjajúcim roztokom obsahujúcim dimetylaminocinnamaldehyd. Enzymatická hydrolýza tohto substrátu enterokokmi, streptokokmi skupiny A a druhom *Citrobacter* spp. po pridaní vyvíjacieho roztoku PYR vytvorí fialovú farbu⁶.

SÚČASTI SÚPRAVY (ID0580M)

Každá súprava O.B.I.S. PYR obsahuje nasledujúce činidlá, dostačujúce pre 60 testov:

ID0581M Testovacie karty PYR: 1 váčik s 10 kartami a vreckom absorbujúcim vlhkosť. Na každej karte je 6 testovacích reakčných oblastí. Celkovo 60 testov. Každá testovacia karta je impregnovaná kyselinou L-pyroglutámovou a 7-amido-4-metylkumarínom.

ID0200M Vyvíjací roztok PYR – 1 fľaška s kvapkadlom obsahujúca 7 ml 1 M kyseliny chlorovodíkovej a 0,5 % hmotn./obj. dimetylaminocinnamaldehydu

ID0100M Pufer – 1 fľaška s kvapkadlom obsahujúca 7 ml PBS (fyziologický roztok s fosfátovým puferom)

Návod na použitie

Materiály požadované, ale nedodávané

Plastové mikrobiologické očkovacie slučky.

MBD_BT_IFU-0520

BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA

Tento produkt je určený len na diagnostické použitie *in vitro*.

Činidlá O.B.I.S. PYR nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie.

Materiál vzorky môže obsahovať patogénne organizmy, zaobchádzajte s nimi v súlade s príslušnými bezpečnostnými opatreniami.

Vyvíjací roztok PYR (ID0200M) obsahuje slabú kyselinu. Vyhnite sa priamemu kontaktu nosením vhodných ochranných prostriedkov. Ak sa materiál dostane do kontaktu s pokožkou, sliznicami alebo očami, okamžite postihnuté miesto opláchnite veľkým množstvom vody. Použité testovacie karty a očkovacie slučky sa musia zlikvidovať ako biologicky nebezpečný odpad a spáliť alebo autoklávať 15 minút pri teplote 121 °C.

Informácie o potenciálne nebezpečných zložkách nájdete v karte bezpečnostných údajov (KBÚ) na webovej stránke spoločnosti a na označení produktu.

Starostlivo si prečítajte a dodržiavajte pokyny.

Akákoľvek závažná udalosť, ktorá sa vyskytla v súvislosti s pomôckou, sa musí oznámiť výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom sídli používateľ a/alebo pacient.

V prípade poruchy pomôcku nepoužívajte.

UCHOVÁVANIE A OTVORENIE

Táto súprava sa musí skladovať pri teplote 2 °C – 8 °C. Pred otvorením nechajte váčiky dosiahnuť izbovú teplotu, aby ste zabránili tvorbe kondenzácie na testovacích kartách.

Otvorte váčiky prestrihnutím nožnicami medzi uzáverom na konci váčika a zipovým uzáverom.

Po otvorení vyberte počet testovacích kariet požadovaných na testovanie v nasledujúcich 10 minútach a váčik ihneď znovu uzavrite. Ak je potrebných menej testov, testovaciu kartu rozstrihnite a nepoužité časti vráťte do váčika. Nevracajte použité časti do váčika, pretože za sa týchto podmienok kontaminujú.

Ak sú činidlá uchovávané podľa pokynov, zachovávajú si svoju aktivitu až do dátumu expirácie uvedeného na škatuli.

POSTUP KONTROLY KVALITY

Každý deň používania súpravy je potrebné vykonať nasledujúce kontrolné postupy:

- Pozitívna kontrola** – použite kmene so známou pozitívnu PYRázovou aktivitou, ako sú *Enterococcus faecalis* ATCC™ 29212 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607030), *Streptococcus pyogenes* ATCC™ 19615 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607000) alebo *Citrobacter freundii* ATCC™ 8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800). Postupujte podľa metódy uvedenej v postupe testu. Uistite sa, že sa do 20 sekúnd vytvorí fialová farba.
- Negatívna kontrola** – Použite kmene so známou negatívnu PYRázovou aktivitou, ako sú *Streptococcus agalactiae* ATCC™ 13813 alebo *Salmonella enteritidis* ATCC™ 13706 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Postupujte podľa metódy uvedenej v postupe testu. Uistite sa, že sa do 20 sekúnd nevytvorí fialová farba.

Ak sú reakcie s kontrolnými organizmami nesprávne, činidlá nepoužívajte.

ODBER A PRÍPRAVA VZORIEK

Podrobnosti o odbere a ošetrení vzoriek nájdete v štandardnom učebnom materiáli⁷.

Pri identifikácii enterokokov a streptokokov skupiny A:

Poskytujú najlepšie výsledky čerstvé primárne alebo sekundárne kultúry pestované cez noc na neselektívnych médiách, ako je krvný agar. Testované kolónie musia byť gram-pozitívne koky a kataláza-negatívne. V prípade nedostatočného rastu by sa mala vykonať subkultivácia.

Pri identifikácii druhu *Citrobacter* spp. od druhu *Salmonella* spp. a Enterobacteriaceae:

Môžu sa použiť kolónie z neselektívnych médií alebo selektívnych médií (ako je médium XLD, agar MLCB, MacConkeyho agar, desoxycholátový citrátový agar, agar *Salmonella* Shigella, zelený agar Brilliant alebo hektoénový enterický agar (vyžaduje sa upravený testovací postup – pozri nižšie)). Misky by sa mali testovať maximálne jednu hodinu po vybratí z inkubátora.

Kolónie by mali byť gram-negatívne, oxidáza-negatívne a ureáza-negatívne⁸.

POSTUP TESTU

- Aplikujte jednu podozrivú kolóniu (0,5 mm alebo väčšiu) na testovaciu oblasť pomocou plastovej slučky (dostatočnú na vytvorenie viditeľného náteru).
- Navlhčite testovaciu oblasť 1 kvapkou pufru (ID0100M).
- Inkubujte naočkovanú testovaciu kartu pri izbovej teplote (15 – 30 °C) 5 minút.
- Naneste 1 kvapku vyvíjacieho roztoku PYR (ID0200M) na testovaciu oblasť. Vznik žiarivej fialovej farby na kolóniách a okolo nich v priebehu 20 sekúnd potvrdzuje aktivitu PYRázy.

ČÍTANIE A INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV

Pozitívny výsledok

Pozitívny výsledok je indikovaný vznikom žiarivej fialovej farby v naočkovanej časti testovacej oblasti do 20 sekúnd po pridaní vyvíjacieho roztoku.

Negatívny výsledok

Negatívny výsledok je indikovaný absenciou vzniku farby v naočkovanej časti testovacej oblasti do 20 sekúnd po pridaní vyvíjacieho roztoku.

MODIFIKOVANÝ POSTUP TESTOVANIA – HEKTOÉNOVÝ ENTERICKÝ AGAR

- Aplikujte jednu podozrivú kolóniu (0,5 mm alebo väčšiu) na testovanú oblasť pomocou plastovej slučky (dostatočnú na vytvorenie viditeľného náteru).
- Navlhčite testovaciu oblasť jednou kvapkou pufru (ID0100M).
- Vložte naočkovanú kartu do vhodného plastového vrecka/puzdra (približne 75 mm x 100 mm).
- Inkubujte 30 minút pri teplote 37 °C ±2 °C.
- Naneste jednu kvapku vyvíjacieho roztoku PYR (ID0200M) na testovaciu oblasť. Vznik žiarivej fialovej farby na rozotretej kolónii a okolo nej v priebehu 20 sekúnd potvrdzuje aktivitu PYRázy. (Ak sa vyberie čierna kolónia, fialová farba môže byť mierne zastretá čiernou pigmentáciou sulfidu železnatého.)
- Negatívna reakcia je určená absenciou zmeny farby náteru inokula.
- Vznik zelenkastej farby v priebehu jednej minúty sa považuje za negatívnu PYR reakciu a je spôsobený prítomnosťou indolu. Tieto organizmy nie sú *Salmonella* spp.

Tabuľka s interpretáciou

OČAKÁVANÉ VÝSLEDKY		
Organizmus	Reaktivita s	
	Lancefiel-dovým zo-skupením	O.B.I.S. PYR
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	–
<i>Streptococcus skupiny C</i>	C	–
<i>Streptococcus bovis</i>	D	–
<i>Enterococcus faecalis</i>	D	+
<i>Enterococcus faecium</i>	D	+
<i>Streptococcus skupiny F</i>	F	–
<i>Streptococcus skupiny G</i>	G	–
<i>Citrobacter</i>	–	+
<i>Salmonellae</i>	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–

OBMEDZENIA TESTU

O.B.I.S. PYR je určený na detekciu aktivity PYRázy v gram-pozitívnych, kataláza-negatívnych kokoch a druhu *Citrobacter* spp.

Menej často sa vyskytujúce izoláty laktokokov a aerokokov môžu byť PYRáza pozitívne. Potvrdenie enterokokov alebo streptokokov skupiny A možno dosiahnuť sérologickým zaradením do skupiny pomocou vhodného testu, napr. zoskupovacia súprava na streptokoky Oxoid (DR0595A).

Niektoré kmene *Enterobacter cloacae* sú PYRáza negatívne.

Reakcie s O.B.I.S. PYR sú markerom enzymovej aktivity a príležitostne sa môžu vyskytnúť atypické kmene.

Pri negatívnych reakciách môže vzniknúť mierna zmena farby. Tá je obmedzená na bezprostredné miesto očkovania. Na pomoc pri interpretácii si pozrite pozitívne a negatívne kontroly.

Inkubácia dlhšia ako 20 sekúnd po pridaní vyvíjacieho roztoku PYR môže spôsobiť nešpecifické farebné reakcie. Preto je dôležité, aby sa test čítal podľa pokynov.

REFERENCIE

- Ellner, P. D., Williams, D. A., Hosmer, M. E. and Cohenford, M. (1985). Preliminary evaluation of a rapid colorimetric method for the presumptive identification of Group A streptococci and enterococci. J. Clin. Microbiol. 22. 880–881.
- Facklam, R. R., Padula, J. F., Thacker, L. G., Wortham, E. C. and Sconyers, B. J. (1974). Presumptive identification of Group A, B and D streptococci. Appl. Microbiol. 27. 107–109.
- Chagla, A. H., Borczyk, A. A., Aldom, J. E., Dalla Rosa, S. and Cole, D. D. (1993). Evaluation of the L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide hydrolysis test for differentiation of members of the families Enterobacteriaceae and Vibrionaceae. J. Clin. Microbiol. 31. 1946–1948.
- Bennett, A. R., MacPhee, S., Betts, R. and Post, D. (1999). Use of the enzyme pyrrolidonyl peptidase (Oxoid PYR test) to distinguish *Citrobacter* from *Salmonella* isolated from foods. Letters in Applied Microbiology. 28. 175–178.
- Bascomb, S. and Manafi, M. (1988). Use of enzyme tests in the characterisation and identification of aerobic and facultatively anaerobic Gram-Positive cocci. Clinical Microbiology Reviews 11. 318–340.
- Údaje v súboroch v spoločnosti Oxoid.
- Carroll K. C. et al. Manual of Clinical Microbiology, 12th Edition, 2019. ASM Press, Washington, D.C. USA.

VYSVETLENIE SYMBOLOV

	Katalógové číslo
	Diagnostická zdravotnícka pomôcka <i>in vitro</i>
	Kód šarže (Číslo šarže)
	Teplotný limit (Teplota uchovávania)
	Dátum spotreby (Dátum expirácie)
	Nepoužívajte opakovane
	Pozrite si návod na použitie
	Nepoužívajte, ak je balenie poškodené
	Obsah dostatočný pre <n> testov
	Výrobca
	Európsky autorizovaný zástupca
	Posudzovanie zhody v Spojenom kráľovstve
	Označenie CE



IFU X5916C 2022-09-05 Vytlačené v Spojenom kráľovstve

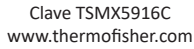
 Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK

Ak potrebujete technickú pomoc, kontaktujte svojho miestneho distribútora.

© 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Všetky práva vyhradené.

ATCC a katalógové značky ATCC sú ochrannou známkou American Type Culture Collection.

Všetky ostatné ochranné známky sú vlastníctvom spoločnosti Thermo Fisher Scientific Inc. a jej pridružených spoločností.



Biochemical Identification System (OBIS) Oxoid™ PIR ES

REF ID: A580M..... 60

OBIS PIR es una prueba rápida cualitativa colorimétrica para detectar actividad de PIRasa en estreptococos y en especies de *Citrobacter* desarrolladas sobre medios en placas. El dispositivo se utiliza en un flujo de trabajo de diagnóstico para ayudar a los médicos a determinar las opciones de tratamiento para pacientes con sospecha de infecciones bacterianas.

La actividad de PIRasa distingue a los estreptococos del grupo A y los enterococos de otros grupos de estreptococos, incluidos los del grupo D (antes llamados estreptococos fecales)^{3,2}, de modo que ofrece una alternativa de diagnóstico rápido frente a métodos de cultivo que requieren mucho tiempo. Además, se puede utilizar la misma actividad enzimática para contribuir a la diferenciación de *Salmonella* spp. respecto a *Citrobacter* spp. y otras Enterobacteriaceae^{3,4}.

Cada kit OBIS PIR contiene los reactivos siguientes en cantidad suficiente para 60 pruebas:

MBD_BT_IFU-0520

RESULTADOS ESPERADOS		
Organismo	Reactividad con	
	Grupo de Lancefield	OBIS PIR
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	–
<i>Streptococcus del grupo C</i>	C	–
<i>Streptococcus bovis</i>	D	–
<i>Enterococcus faecalis</i>	D	+
<i>Enterococcus faecium</i>	D	+
<i>Streptococcus del grupo F</i>	F	–
<i>Streptococcus del grupo G</i>	G	–
<i>Citrobacter</i>	–	+
<i>Salmonellae</i>	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–

21 of 24

LEYENDA DE SÍMBOLOS

	Numero de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Código de lote (número de lote)
	Limites de temperatura (temperatura de almacenamiento)
	Fecha de caducidad
	No reutilizar
	Consulte las instrucciones de uso (IFU)
	No utilizar si el paquete está dañado
	Contiene la cantidad suficiente para <n> pruebas
	Fabricado por
	Representante autorizado en Europa
	Conformidad del Reino Unido evaluada
	Marcado CE



IFU X5916C 2022-09-05 Impreso en el Reino Unido

 Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Reino Unido

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su distribuidor local.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Reservados todos los derechos.

ATCC y las marcas del catálogo de ATCC son marcas comerciales de American Type Culture Collection.

Todas las demás marcas comerciales son propiedad de Thermo Fisher Scientific Inc. y sus subsidiarias.



Europa: +800 135 79 135 USA: 1 855 236 0910
Kanada: 1 855 805 8539 Övriga världen: +31 20 794 7071

Biokemiskt Oxoid™-identifieringssystem (O.B.I.S.) PYR

REF	ID0580M..... 60
-----	-----------------

AVSEDD ANVÄNDNING

O.B.I.S. PYR är ett snabbt, kvalitativt, kolorimetriskt test för detektion av PYRase-aktivitet i streptokocker och *Citrobacter* spp. som odlas på odlingsmedier. Mediet används i ett diagnostiskt arbetsflöde för att hjälpa läkare i behandlingsalternativen för patienter som misstänks ha bakteriella infektioner.

Mediet är inte automatiserat, är endast avsett för professionellt bruk och är inte ett kompletterande diagnostikverktyg.

PRINCIP FÖR TESTET

PYRase-aktivitet skiljer streptokocker i grupp A och enterokocker från andra streptokockgrupper, inklusive streptokocker i grupp D (tidigare kallade fekala streptokocker)^{1,2}, och erbjuder därmed ett snabbt diagnostiskt alternativ till tidskrävande odlingsmetoder. Dessutom kan samma enzymatiska aktivitet användas för att underlätta differentiering av *Salmonella* spp. från *Citrobacter* spp. och andra Enterobacteriaceae^{3,4}.

Vissa PYRase-tester innehåller andra kromogena substrat, t.ex. β-naftylamider. De ger liknande diagnostiska resultat, men bör hanteras och kasseras med försiktighet på grund av risken för toxicitet⁵.

O.B.I.S. PYR-testet använder testkort som är impregnerade med L-pyroglutaminsyra 7-amido-4-metylkumarin och en utvecklingslösning som innehåller dimetylamino-cinnamaldehyd. Den enzymatiska hydrolysen av det här substratet av enterokocker, streptokocker i grupp A och *Citrobacter* spp. ger en lila färg efter tillsats av PYR-utvecklingslösningen⁶.

KOMPONENTER I KITET (ID0580M)

Varje O.B.I.S. PYR-kit innehåller följande reagens, vilket är tillräckligt för 60 tester:

ID0581M	PYR-testkort: 1 påse innehållande 10 kort och en fuktabsorberande dospåse. Det finns 6 testreaktionsområden på varje kort. 60 tester totalt. Varje testkort är impregnerat med L-pyroglutaminsyra 7-amido-4-metylkumarin.
ID0200M	PYR-utvecklingslösning – 1 droppflaska innehållande 7 ml 1M-saltsyra och 0,5% vikt/volym dimetylamino-kanelaldehyd
ID0100M	Buffert – 1 droppflaska innehållande 7 ml PBS (fosfatbuffrad saltlösning)

Bruksanvisning

Material som krävs men inte tillhandahålls

Mikrobiologiska inokuleringsöglor av plast.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Den här produkten ska endast användas för *in vitro*-diagnostisk.

Använd inte O.B.I.S. PYR-reagens efter utgångsdatumet.

Provmaterial kan innehålla patogena organismer och ska därför hanteras med lämpliga försiktighetsåtgärder.

PYR-utvecklingslösningen (ID0200M) innehåller en svag syra. Direktkontakt ska undvikas genom användning av skyddsutrustning. Om materialet kommer i kontakt med hud, slemhinnor eller ögon ska området omedelbart sköljas med mycket vatten. Använda testkort och inokuleringsöglor måste kasseras som biologiskt farligt avfall och förbrännas eller autoklaveras vid 121 °C i 15 minuter.

Se säkerhetsdatabladet på företagets webbplats och produktmärkning för information om potentiellt farliga komponenter.

Instruktioner ska läsas och följas noggrant.

Alla allvarliga händelser som inträffar i samband med användning av produkten ska rapporteras till tillverkaren och behöriga myndighet i den medlemsstat som användaren och/eller patienten är etablerad i.

Använd inte mediet om det inte fungerar som det ska.

FÖRVARING OCH ÖPPNANDE

Kittet måste förvaras vid 2–8 °C. Låt påsarna nå rumstemperatur innan de öppnas för att förhindra att det bildas kondens på testkorten.

Öppna påsarna genom att klippa mellan förseglingen i änden av påsen och blixtlåsförseglingen med en sax.

När påsarna är öppnade ska du ta ut det antal testkort som behövs för testning inom de närmaste 10 minuterna och omedelbart återförsluta påsen. Om färre tester behövs klipper du testkortet och lägger tillbaka de oanvända delarna i påsen. Lägg inte tillbaka använda delar i påsen, eftersom de kommer att bli kontaminerade under dessa förhållanden.

När reagensen förvaras enligt anvisningarna behåller de sin aktivitet fram till det utgångsdatum som anges på kartongen.

KVALITETSKONTROLLPROCEDUR

Följande kontrollprocedurer ska utföras varje dag som kittet används:

- Positiv kontroll** – Använd en känd PYRase-positiv stam, t.ex. *Enterococcus faecalis* ATCC™ 29212 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607030), *Streptococcus pyogenes* ATCC™ 19615 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607000) eller *Citrobacter freundii* ATCC™ 8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800). Följ den metod som anges i testproceduren. Se till att en lila färg bildas inom 20 sekunder.
- Negativ kontroll** – Använd en känd PYRase-negativ stam, t.ex. *Streptococcus agalactiae* ATCC™ 13813 eller *Salmonella enteritidis* ATCC™ 13706 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Följ den metod som anges i testproceduren. Se till att ingen lila färg bildas inom 20 sekunder.

Använd inte reagensen om reaktionerna med kontrollorganismerna är felaktiga.

PROVTAGNING OCH BEREDNING

Mer information om insamling och behandling av prover finns i vanliga läroböcker⁷.

Vid identifiering av enterokocker och streptokocker i grupp A:

Färska primära eller sekundära odlingar som odlas över natten på icke-selektiva medier, t.ex. blodagar, ger bäst resultat. De kolonier som testas måste vara grampositiva kocker och katalasnegativa. Om tillväxten är otillräcklig ska fortsatt odling genomföras.

Vid identifiering av *Citrobacter* spp. från *Salmonella* spp. och Enterobacteriaceae:

Kolonier från icke-selektiva medier eller selektiva medier (t.ex. XLD-medium, MLCB-agar, MacConkey-agar, desoxycholatcitratagar, Salmonella Shigella-agar, grönt Brilliant-agar eller enteriskt Hektoen-agar (modifierat testförfarande krävs – se nedan)) kan användas. Plattorna bör testas högst en timme efter att de tagits ur inkubatorn.

Kolonierna ska vara gramnegativa, oxidasnegativa och ureasnegativa⁷.

TESTPROCEDUR

- Applicera en misstänkt koloni (0,5 mm eller större) på testområdet med hjälp av en ögla av plast (tillräckligt för att göra ett synligt utstryk).
- Fukta testområdet med 1 droppe buffert (ID0100M).
- Inkubera det inokulerade testkortet vid rumstemperatur (15–30 °C) i 5 minuter.
- Tillsätt 1 droppe PYR-utvecklingslösning (ID0200M) på testområdet. Utvecklingen av en stark lila färg på och runt kolonierna inom 20 sekunder bekräftar PYRase-aktivitet.

AVLÄSNING OCH TOLKNING AV RESULTAT

Positivt resultat

Ett positivt resultat indikeras av att en stark lila färg utvecklas i den inokulerade delen av testområdet inom 20 sekunder efter tillsats av utvecklingslösningen.

Negativt resultat

Ett negativt resultat indikeras av att en färg inte utvecklas i den inokulerade delen av testområdet inom 20 sekunder efter tillsats av utvecklingslösningen.

MODIFIERAT TESTFÖRFARANDE – ENTERISKT HEKTOEN-AGAR

- Applicera en misstänkt koloni (0,5 mm eller större) på testområdet med hjälp av en ögla av plast (tillräckligt för att göra ett synligt utstryk).
- Fukta testområdet med en droppe buffertlösning (ID0100M).
- Placera det inokulerade kortet i en lämplig plastpåse/fodral (cirka 75 mm x 100 mm).
- Inkubera vid 37 °C ± 2 °C i 30 minuter.
- Tillsätt en droppe PYR-utvecklingslösning (ID0200M) på testområdet. Utvecklingen av en stark lila färg på och runt cellprovskolonin inom 20 sekunder bekräftar PYRase-aktivitet. (Den lila färgen kan döljas något av järnsulfidens svarta pigmentering om en svart koloni väljs.)
- En negativ reaktion visas genom att färgen på utstryket inte förändras.
- Utveckling av en grönaktig färg inom en minut betraktas som en negativ PYR-reaktion och beror på närvaron av indol. Dessa organismer är inte *Salmonella* spp.

Tolkningstabell

FÖRVÄNTADE RESULTAT		
Organism	Reaktivitet med	
	Lancefield-grupp	O.B.I.S. PYR
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	B	–
<i>Streptokocker i grupp C</i>	C	–
<i>Streptococcus bovis</i>	D	–
<i>Enterococcus faecalis</i>	D	+
<i>Enterococcus faecium</i>	D	+
<i>Streptokocker i grupp F</i>	F	–
<i>Streptokocker i grupp G</i>	G	–
<i>Citrobacter</i>	–	+
<i>Salmonellae</i>	–	–
<i>Escherichia coli</i>	–	–

TESTETS BEGRÄNSNINGAR

O.B.I.S. PYR är avsedd för detektion av PYRase-aktivitet i grampositiva, katalasnegativa kocker och *Citrobacter* spp.

Mindre vanliga isolat av laktokocker och aerokocker kan vara PYRase-positiva. Enterokocker eller streptokocker i grupp A kan bekräftas genom serologisk gruppering med ett lämpligt test, t.ex. Oxoid-kit för gruppering av streptokocker (DR0595A).

Vissa stammar av *Enterobacter cloacae* är PYRase-negativa.

Reaktionerna med O.B.I.S. PYR är en markör för enzymaktivitet och atypiska stammar kan ibland förekomma.

En liten färgförändring kan uppstå vid negativa reaktioner. Den är begränsad till den omedelbara platsen för inokuleringen. Hänvisa till de positiva och negativa kontrollerna för att underlätta tolkningen.

Inkubation längre än 20 sekunder efter tillsats av PYR-utvecklingslösningen kan ge ospecifika färgreaktioner. Det är därför viktigt att testet läses enligt anvisningarna.

REFERENSER

- Ellner, P. D., Williams, D. A., Hosmer, M. E. and Cohenford, M. (1985). Preliminary evaluation of a rapid colorimetric method for the presumptive identification of Group A streptococci and enterococci. J. Clin. Microbiol. 22. 880–881.
- Facklam, R. R., Padula, J. F., Thacker, L. G., Wortham, E. C. and Sconyers, B. J. (1974). Presumptive identification of Group A, B and D streptococci. Appl. Microbiol. 27. 107–109.
- Chagla, A. H., Borczyk, A. A., Aldom, J. E., Dalla Rosa, S. and Cole, D. D. (1993). Evaluation of the L-pyrrolidonyl-beta-naphthylamide hydrolysis test for differentiation of members of the families Enterobacteriaceae and Vibrionaceae. J. Clin. Microbiol. 31. 1946–1948.
- Bennett, A. R., MacPhee, S., Betts, R. and Post, D. (1999). Use of the enzyme pyrrolidonyl peptidase (Oxoid PYR test) to distinguish *Citrobacter* from *Salmonella* isolated from foods. Letters in Applied Microbiology. 28. 175–178.
- Bascomb, S. and Manafi, M. (1988). Use of enzyme tests in the characterisation and identification of aerobic and facultatively anaerobic Gram-Positive cocci. Clinical Microbiology Reviews 11. 318–340.
- Arkiverade data hos Oxoid.
- Carroll K. C. et al. Manual of Clinical Microbiology, 12th Edition, 2019. ASM Press, Washington, D.C. USA.

SYMBOLFÖRKLARING	
	Katalognummer
	Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik
	Batchkod (partinummer)
	Temperaturbegränsning (förvaringstemperatur)
	Använd senast (utgångsdatum)
	Återanvänd inte
	Läs bruksanvisningen
	Använd inte om förpackningen är skadad
	Innehåller tillräckligt för <n> tester
	Tillverkad av
	Auktoriserad representant i Europa
	Bedömning av överensstämmelse i Storbritannien utförd
	CE-märkning



IFU X5916C 2022-09-05 Tryckt i Storbritannien

 Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK

Kontakta lokal distributör för teknisk assistans.

©2022 Thermo Fisher Scientific Inc. Med ensamrätt.

ATCC och ATCC-katalogmärkena är ett varumärke som tillhör American Type Culture Collection.

Alla övriga varumärken tillhör Thermo Fisher Scientific Inc. och dess dotterbolag.