



Key Code TSMX5862D
www.thermofisher.com

Europe + 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.) Salmonella



REF ID0570M..... ▽60

INTENDED USE

The Oxoid Biochemical Identification System (O.B.I.S.) Salmonella is a rapid, qualitative, colorimetric test for the determination of pyroglutamyl aminopeptidase (PYRase) and nitrophenylalanine deaminase (NPA) activity. The test is used for the presumptive identification of *Salmonella* species from plated media. The device is used in a diagnostic workflow to aid clinicians in the treatment options for patients suspected of having bacterial infections.

The device is not automated, is for professional use only and is not a companion diagnostic.

PRINCIPLE OF THE TEST

The O.B.I.S. Salmonella Test offers a rapid screening method to distinguish *Salmonella* spp. from those organisms exhibiting similar colonial appearance on common selective Salmonella media. This reduces the need for a full biochemical identification of suspect colonies.

Identification of Salmonella relies on primary isolation of the organism on selective enteric media. However, there are several other genera among the Enterobacteriaceae also capable of growth on such media and which can have similar colony morphology to salmonellae.

The lack of PYRase and NPA activity in *Salmonella* spp. can be used to differentiate them from *Citrobacter* spp. which possess PYRase activity^(1,2,3) and *Proteus*, *Morganella* and *Providencia* spp. which have NPA activity⁽⁴⁾.

The PYRase area on the O.B.I.S. Salmonella Test Card is impregnated with L-pyroglutamic acid 7-amido-4-methylcoumarin⁽⁵⁾. Dimethylaminocinnamaldehyde is used as a colour development reagent. The enzymatic hydrolysis of the substrate produces a purple colour on addition of the O.B.I.S. PYR Developing Solution⁽⁹⁾.

The NPA area on the O.B.I.S. Salmonella Test Card is impregnated with nitrophenylalanine. Deamination of the reagent is shown by an orange-brown colour when the O.B.I.S. NPA Developing Solution (0.25 M sodium hydroxide) is added.

COMPONENTS OF THE O.B.I.S. SALMONELLA KIT (ID0570M)

Each O.B.I.S. Salmonella Kit contains the following reagents sufficient for 60 tests:

ID0571M O.B.I.S. Salmonella Test Cards:

2 resealable plastic pouches, each containing 10 Test Cards and a desiccant.

There are 3 tests on each Test Card, each consisting of 2 reaction areas.

Each reaction area designated as PYR is impregnated with 1% w/v L-pyroglutamic acid 7-amido-4-methylcoumarin.

Each reaction area designated as NPA is impregnated with 5% w/v nitrophenylalanine.

ID0200M O.B.I.S. PYR Developing Solution

1 dropper bottle containing 7 ml of 1 M hydrochloric acid and 0.5% w/v dimethylaminocinnamaldehyde.

ID0210M O.B.I.S. NPA Developing Solution

1 dropper bottle containing 7 ml of 0.25 M sodium hydroxide.

ID0100M O.B.I.S. Buffer Solution

1 dropper bottle containing 7 ml of Phosphate Buffered Saline (PBS).

Instructions for Use (IFU).

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Microbiological loop.

Positive and negative quality control organisms.

PRECAUTIONS

This product is for *in vitro* diagnostic use only.

Do not use O.B.I.S. Salmonella reagents beyond the stated expiry date.

Specimen material may contain pathogenic organisms, handle with appropriate precautions.

The O.B.I.S. PYR Developing Solution (ID0200M) contains an acid.

The O.B.I.S. NPA Developing Solution (ID0210M) contains a weak base. Avoid direct contact by wearing suitable protective equipment. If the reagents come into contact with the skin, mucous membranes or eyes immediately wash the area thoroughly with plenty of water.

Used O.B.I.S. Test Cards and microbiological loops should be disposed of as biohazardous waste and incinerated or autoclaved for 15 minutes at 121°C.

Please refer to the Safety Data Sheet (SDS) on company website and product labelling for information on potentially hazardous components.

Directions should be read and followed carefully.

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

In the event of malfunction do not use device.

STORAGE AND OPENING

The O.B.I.S. Salmonella Kit must be stored at 2°–8°C. Allow the pouches to equilibrate to room temperature before opening to prevent the formation of condensation on the Test Cards.

Open the pouches by cutting at the notch between the end seal and the zip lock opening.

Once opened, remove the number of Test Cards required for immediate testing (testing within next 10 minutes) and reseal the pouch straight away.

Protect the Test Cards from light

If fewer tests are required, cut the Test Card and return the unused portions to the pouch. Do not return used portions to the pouch as they will be contaminated.

When stored as indicated, O.B.I.S. Salmonella reagents will retain their activity until the expiry date shown on the box.

QUALITY CONTROL PROCEDURE

Each day the Kit is used the following control procedures should be performed:

PYRase Test

- Positive control** – Use a known pyroglutamyl aminopeptidase positive strain such as *Citrobacter freundii* ATCC™8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800). Follow the method given in the test procedure.

Ensure that a purple colour forms within 20 seconds.

- Negative control** – Use a known pyroglutamyl aminopeptidase negative strain such as *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis ATCC® 13076™ (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Follow the method given in the test procedure.

Ensure that no purple colour forms within 20 seconds.

NPA Test

- Positive control** – Use a known phenylalanine deaminase positive strain such as *Proteus mirabilis* ATCC™43071 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607073). Follow the method given in the test procedure.

Ensure that an orange-brown colour forms within 20 seconds.

- Negative control** – Use a known phenylalanine deaminase negative strain such as *Citrobacter freundii* ATCC™8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800) or *Salmonella* ser enteritidis ATCC™13076 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Follow the method given in the test procedure.

Ensure that no orange-brown colour forms within 20 seconds.

Do not use the reagents if reactions with control organisms are incorrect.

SPECIMENS

Colonies with a typical Salmonella morphology on the following media may be tested: Brilliant Green Agar (Modified) (CM0329), MLCB Agar (CM0783), XLD Medium (CM0469), SS Agar (CM0099), SS Agar Modified (CM0533), Hektoen Enteric Agar (CM0419)*, Desoxycholate Citrate Agar (CM0035) or Bismuth Sulphite Agar (CM0201).

Colonies tested should be Gram-negative and Oxidase negative.

Plates should be tested a maximum of one hour after being removed from the incubator.

*Modified test procedure required – see below.

TEST PROCEDURE AND INTERPRETATION OF RESULTS

Important Note: nitrophenylalanine impregnated on the NPA Test area is light sensitive. Exposure to light for more than 1 hour must be avoided.

- Select one suspect colony (0.5 mm or larger). Apply the colony to the PYR and NPA Test areas (sufficient colony should be applied to each area to make a visible smear).
- Moisten both Test areas with 1 drop of Buffer Solution (ID0100M).
- Incubate the inoculated Test Card at room temperature (15–30°C) for 5 minutes.
- Dispense 1 drop of the O.B.I.S. PYR Developing Solution (ID0200M) to the PYR Test area. Development of a vivid purple colour on and around the smeared colony within 20 seconds confirms PYRase activity.
- Dispense 1 drop of the O.B.I.S. NPA Developing Solution (ID0210M) to the NPA Test area. Development of an orange-brown colour on and around the smeared colony within 20 seconds confirms NPA activity.

Modified Test Procedure – Hektoen Enteric Agar

- Apply one suspect colony (0.5 mm or larger), and inoculate both PYR and NPA Test areas using a plastic loop. Sufficient colony should be applied to each area to make a visible smear.
- Moisten both Test areas with one drop of Buffer Solution (ID0100M).
- Place the inoculated card into a suitable plastic bag/sleeve (approximately 75mm X 100mm).
- Incubate at 37°C ± 2°C for 30 minutes.
- Dispense one drop of O.B.I.S. PYR Developing Solution (ID0200M) onto the PYR Test area. Development of a vivid purple colour on and around the smeared colony within 20 seconds denotes a POSITIVE reaction. (The purple colour may be slightly obscured by the black pigmentation of ferrous sulfide if a black colony is selected.)
- A NEGATIVE reaction is denoted by no change in colour of the inoculum smear.
- Development of a greenish colour within one minute is considered a NEGATIVE PYR reaction and is due to the presence of indole. These organisms are not *Salmonella* spp.
- Dispense one drop of NPA Developing Solution (ID0210M) onto the NPA Test area. Development of a vivid orange-brown colour on and around the smeared colony within 20 seconds denotes a POSITIVE reaction. (The orange-brown colour may be slightly obscured by the black pigmentation of ferrous sulphide if a black colony is selected.)
- No change in colour of the smear, or intensification of the green-blue colour due to acidification of the bromothymol blue in the colony, indicates a NEGATIVE NPA reaction.

Interpretation chart

Typical organism reactions:

Organism	PYRase	NPA
<i>Salmonella</i> spp.	–	–
<i>Citrobacter</i> spp.	+	–
<i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> and <i>Providencia</i> spp.	–	+

Trial Results (Data on File)

Results from pure culture:

Organism	N ^o of Specimens Tested	Positive PYRase Reaction	Positive NPA Reaction
<i>Salmonella</i> spp.	150	0	0
<i>Citrobacter</i> spp.	56	55*	0
<i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> and <i>Providencia</i> spp.	50	0	50

* One *Citrobacter* strain gave a negative PYRase reaction. This was confirmed as *Citrobacter youngae* thus showing a truly negative result.

In a trial of 470 faecal samples O.B.I.S. *Salmonella* gave the following results:

Sensitivity 100%

Specificity 81.5%–95.4% †

† Depending on the plating medium used.

LIMITATIONS OF THE TEST

O.B.I.S. *Salmonella* is intended for the detection of PYRase and NPA activity in Gram-negative, Oxidase negative microorganisms. It can be used as a screen to differentiate *Salmonella* spp. from *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia* and *Morganella* spp. from the following selective enteric media: Brilliant Green Agar (Modified) (CM0329), MLCB Agar (CM0783), XLD Medium (CM0469), Bismuth Sulphite Agar (CM0201), SS Agar (CM0099), SS Agar Modified (CM0533) and Hektoen Enteric Agar (CM0419) or Desoxycholate Citrate Agar (CM0035).

A few isolates of H₂S-positive *Escherchia coli* may appear as salmonellae on MLCB Agar. These organisms will show the same results as *Salmonella* spp. on the O.B.I.S. *Salmonella* Test as they also lack both PYRase and NPA activity.

The neutral red in Desoxycholate Citrate Agar (CM0035) may produce a pink colour on the O.B.I.S. Test Card. To avoid any confusion with the positive purple reaction in the PYR test the result should be compared to a positive control strain.

E. coli and indole-positive *Proteus* spp. obtained from media with a high tryptophan content may generate a blue-green colour development on the PYR Test area. This is a negative result.

Citrobacter youngae may produce a PYRase-negative result and show the same result as *Salmonella* spp.

O.B.I.S. salmonella provides a reliable presumptive identification of salmonellae, but does not replace the need for full biochemical testing.

REFERENCES

1. 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.
2. Mulczyk, M. and Szewczuk, A. (1970). Pyrrolidonyl Peptidase in Bacteria: A New Colorimetric Test for Differentiation of Enterobacteriaceae. *J. Gen. Microbiol.* 61. 9–13.
3. Inoue, K., Miki, K., Tamura, K. and Sakazaki, R. (1996). Evaluation of L-Pyrrolidonyl Peptidase Paper Strip Test for Dif-ferentiation of Members of the Family Enterobacteriaceae, Particularly *Salmonella* spp. *J. Clin. Microbiol.* 34. 1811–1812.
4. Giammanco, G., Pignato, S. and Agodi, A. (1985). A Simple Chromogenic Test For Rapid Screening of *Proteus* and *Providencia* Bacteria. *Microbiologica.* 8. 395–397.
5. Druggan, P., Roberts, P. and Swaine, D. (1999). A Rapid Chromogenic Method for the Differentiation of *Citrobacter* spp. and *Salmonella* spp. Directly from Enteric Media. abstr. C-444 p71 Abstr. 99th Annual Meet. Am. Soc. Microbiol. 1999

SYMBOL LEGEND

	Catalogue Number
	In Vitro 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
	Protect from light



IFU X5862D 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.



Schlüssel-Code TSMX5862D
www.thermofisher.com

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

Oxid™ Biochemical Identification System (O.B.I.S.) Salmonella



REF ID0570M.....▽60

VERWENDUNGSZWECK

Das Oxid Biochemische Identifizierungssystem (O.B.I.S.) Salmonella ist ein schneller, qualitativer, kolorimetrischer Test zur Bestimmung der Aktivität von Pyroglutamyl-Amino-peptidase (PYRase) und Nitrophenylalanin-Deaminase (NPA). Der Test wird für die präsumtive Identifizierung von *Salmonella*-Spezies auf ausplattierten Medien verwendet. 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

Der O.B.I.S. Salmonella-Test bietet eine schnelle Screening-Methode zur Unterscheidung von *Salmonella* spp. von den Organismen, die ein ähnliches koloniales Aussehen auf den üblichen selektiven Salmonella-Medien aufweisen. Dies reduziert die Notwendigkeit einer vollständigen biochemischen Identifizierung verdächtiger Kolonien.

Die Identifizierung von Salmonella beruht auf der primären Isolierung des Organismus auf selektiven enterischen Medien. Es gibt jedoch mehrere andere Gattungen unter den Enterobacteriaceae, die ebenfalls auf solchen Medien wachsen können und die eine ähnliche Koloniemorphologie wie Salmonella aufweisen können.

Das Fehlen von PYRase- und NPA-Aktivität bei *Salmonella* spp. kann dazu verwendet werden, sie von *Citrobacter* spp. zu unterscheiden, die PYRase-Aktivität^(1,2,3) und *Proteus*, *Morganella* und *Providencia* spp. besitzen, die NPA-Aktivität⁽⁴⁾ haben.

Der PYRase-Bereich auf der O.B.I.S. Salmonella-Testkarte ist mit L-Pyroglutaminsäure 7-Amido-4-Methylcumarin imprägniert⁽⁵⁾. Dimethylaminocinnamaldehyd wird als Farbentwicklungreagenz verwendet. Die enzymatische Hydrolyse des Substrats erzeugt bei Zugabe von O.B.I.S. eine violette Farbe. PYR-Entwicklungslösung⁽⁵⁾.

Das NPA-Gebiet auf der O.B.I.S. Salmonella-Testkarte ist mit Nitrophenylalanin imprägniert. Die Desaminierung des Reagenzes zeigt sich durch eine orange-braune Farbe, wenn die O.B.I.S. NPA-Entwicklungslösung (0,25 M Natriumhydroxid) hinzugefügt wird.

KOMPONENTEN DES O.B.I.S. Salmonella-KIT (ID0570M)

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

ID0571M O.B.I.S. Salmonella-Testkarten:

2 wiederverschließbare Plastikbeutel mit je 10 Testkarten und einem Trockenmittel.

Auf jeder Testkarte befinden sich 3 Tests, die jeweils aus 2 Reaktionsbereichen bestehen.

Jeder als PYR bezeichnete Reaktionsbereich ist mit 1 % w/v L-Pyroglutaminsäure 7-Amido-4-Methylcumarin imprägniert.

Jeder als NPA bezeichnete Reaktionsbereich wird mit 5 % w/v Nitrophenylalanin imprägniert.

ID0200M O.B.I.S. PYR-Entwicklungslösung

1 Tropfflasche mit 7 ml 1 M Salzsäure und 0,5 % w/v Dimethylaminocinnamaldehyd.

ID0210M O.B.I.S. NPA Entwicklungslösung

1 Tropfflasche mit 7 ml 0,25 M Natriumhydroxid.

ID0100M O.B.I.S. Pufferlösung

1 Tropfflasche mit 7 ml phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS).

Gebrauchsanweisung (IFU).

ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

Mikrobiologische Öse.

Positive und negative Qualitätskontrollorganismen.

VORSICHTSMASSNAHMEN

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

Verwenden Sie keine O.B.I.S. Salmonella-Reagenzien nach Ablauf des angegebenen Verfallsdatums.

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

Der O.B.I.S. PYR-Entwicklungslösung (ID0200M) enthält eine Säure.

Der O.B.I.S. NPA Entwicklungslösung (ID0210M) enthält eine schwache Base. Vermeiden Sie direkten Kontakt, indem Sie eine geeignete Schutzausrüstung tragen. Wenn die Reagenzien mit der Haut, den Schleimhäuten oder den Augen in Berührung kommen, waschen Sie den Bereich sofort gründlich mit viel Wasser aus.

Gebrauchte O.B.I.S. Testkarten und mikrobiologische Ösen sollten als biologisch gefährlicher Abfall entsorgt und verbrannt oder 15 Minuten lang bei 121 °C autoklaviert werden.

Informationen über potentiell 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

Der O.B.I.S. Das Salmonella-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 an der Kerbe zwischen dem Endsiegel und der Öffnung des Reißverschlusses schneiden.

Nehmen Sie nach dem Öffnen die Anzahl der Testkarten heraus, die Sie für den Soforttest benötigen (Test innerhalb der nächsten 10 Minuten) und verschließen Sie den Beutel sofort wieder.

Schützen Sie die Testkarten vor Licht.

Wenn Sie weniger Tests benötigen, schneiden Sie die Testkarte ab und legen die nicht verwendeten Teile in den Beutel zurück. Geben Sie die benutzten Portionen nicht in den Beutel zurück, da sie sonst kontaminiert werden.

Wenn sie angegeben gelagert werden, behalten O.B.I.S. Salmonella-Reagenzien ihre Aktivität bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum.

VERFAHREN ZUR QUALITÄTSKONTROLLE

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

PYRase-Test

1. **Positiv-Kontrolle** – Verwenden Sie einen bekannten Pyroglutamyl-Amino-peptidase-positiven Stamm wie *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.

2. **Negativ-Kontrolle** – Verwenden Sie einen bekannten Pyroglutamyl-Amino-peptidase-negativen Stamm wie *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis ATCC® 13076™ (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.

NPA-Test

1. **Positiv-Kontrolle** – Verwenden Sie einen bekannten Phenylalanin-Desaminase-positiven Stamm wie *Proteus mirabilis* ATCC™43071 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607073). Befolgen Sie die im Testverfahren angegebene Methode.

Achten Sie darauf, dass sich innerhalb von 20 Sekunden eine orange-braune Farbe bildet.

2. **Negativ-Kontrolle** – Verwenden Sie einen bekannten Phenylalanin-Desaminase-negativen Stamm wie *Citrobacter freundii* ATCC™8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800) oder *Salmonella* ser enteritidis ATCC™13076 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Befolgen Sie die im Testverfahren angegebene Methode.

Achten Sie darauf, dass sich innerhalb von 20 Sekunden keine orange-braune Farbe bildet.

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

PROBEN

Kolonien mit einer typischen Salmonella-Morphologie können auf den folgenden Medien getestet werden: Brilliantgrüner Agar (modifiziert) (CM0329), MLCB-Agar (CM0783), XLD-Medium (CM0469), SS Agar (CM0099), SS-Agar modifiziert (CM0533), Hektoen Enterischer Agar (CM0419)*, Desoxycholat-Citrat Agar (CM0035) oder Bismut-Sulfit-Agar (CM0201).

Die getesteten Kolonien sollten gramnegativ und Oxidase-negativ sein.

Die Platten sollten maximal eine Stunde, nachdem sie aus dem Inkubator genommen wurden, getestet werden.

* Geändertes Testverfahren erforderlich – siehe unten.

TESTVERFAHREN UND INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Wichtiger Hinweis: Nitrophenylalanin, das auf dem NPA-Testfeld imprägniert ist, ist lichtempfindlich. Vermeiden Sie es, sich länger als 1 Stunde dem Licht auszusetzen.

1. Wählen Sie eine verdächtige Kolonie (0,5 mm oder größer). Tragen Sie die Kolonie auf die PYR- und NPA-Testbereiche auf (auf jeden Bereich sollte so viel Kolonie aufgetragen werden, dass ein sichtbarer Abstrich entsteht).

2. Befuchten Sie beide Testbereiche mit 1 Tropfen der Pufferlösung (ID0100M).

3. Inkubieren Sie die geimpfte Testkarte bei Raumtemperatur (15–30 °C) für 5 Minuten.

4. Geben Sie 1 Tropfen der O.B.I.S. PYR-Entwicklungslösung (ID0200M) in den PYR-Testbereich. Die Entwicklung einer leuchtend violetten Farbe auf und um die verschmierte Kolonie innerhalb von 20 Sekunden bestätigt die PYRase-Aktivität.

5. Geben Sie 1 Tropfen der O.B.I.S. NPA-Entwicklungslösung (ID0210M) in den NPA-Testbereich. Die Entwicklung einer orange-braunen Farbe auf und um die verschmierte Kolonie innerhalb von 20 Sekunden bestätigt die NPA-Aktivität.

Modifiziertes Testverfahren – Hektoen Enterischer Agar

1. Bringen Sie eine verdächtige Kolonie (0,5 mm oder größer) auf und beimpfen Sie beide PYR- und NPA-Testbereiche mit einer Plastiköse. Auf jede Stelle sollte so viel Kolonie aufgetragen werden, dass ein sichtbarer Abstrich entsteht.

2. Befuchten Sie beide Testbereiche mit einem Tropfen der Pufferlösung (ID0100M).

3. Legen Sie die geimpfte Karte in einen geeigneten Plastikbeutel/ eine Plastikhülle (ca. 75 mm x 100 mm).

4. Inkubieren Sie bei 37 °C ± 2 °C für 30 Minuten.

5. Geben Sie einen Tropfen O.B.I.S. PYR-Entwicklungslösung (ID0200M) auf das PYR-Testfeld. Die Entwicklung einer lebhaften violetten Farbe auf und um die verschmierte Kolonie innerhalb von 20 Sekunden bedeutet eine POSITIVE Reaktion. (Die violette Farbe kann durch die schwarze Pigmentierung des Eisensulfids leicht verdeckt werden, wenn eine schwarze Kolonie ausgewählt wird.)

6. Eine NEGATIVE Reaktion zeigt sich darin, dass sich die Farbe des Inokulum-Ausstrichs nicht verändert.

7. Die Entwicklung einer grünlichen Farbe innerhalb einer Minute gilt als NEGATIVE PYR-Reaktion und ist auf die Anwesenheit von Indol zurückzuführen. Diese Organismen sind keine *Salmonella* spp.

8. Geben Sie einen Tropfen der NPA-Entwicklungslösung (ID0210M) auf die NPA-Testfläche. Die Entwicklung einer lebhaften orange-braunen Farbe auf und um die verschmierte Kolonie innerhalb von 20 Sekunden bedeutet eine POSITIVE Reaktion. (Die orange-braune Farbe kann durch die schwarze Pigmentierung des Eisensulfids leicht verdeckt werden, wenn eine schwarze Kolonie ausgewählt wird.)

9. Keine Farbveränderung des Ausstrichs oder eine Intensivierung der grün-blauen Farbe aufgrund der Ansäuerung des Bromthymolblaus in der Kolonie weist auf eine NEGATIVE NPA-Reaktion hin.

Interpretationstabelle

Typische Reaktionen des Organismus:

Organismus	PYRase	NPA
<i>Salmonella</i> spp.	–	–
<i>Citrobacter</i> spp.	+	–
<i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> und <i>Providencia</i> spp.	–	+

Studienergebnisse (Archivdaten)

Ergebnisse aus Reinkultur:

Organismus	Anzahl der getesteten Exemplare	Positive PYRase-Reaktion	Positive NPA-Reaktion
<i>Salmonella</i> spp.	150	0	0
<i>Citrobacter</i> spp.	56	55*	0
<i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> und <i>Providencia</i> spp.	50	0	50

* Ein *Citrobacter*-Stamm zeigte eine negative PYRase-Reaktion. Es wurde bestätigt, dass es sich um *Citrobacter youngae* handelt, was ein wirklich negatives Ergebnis darstellt.

In einer Studie mit 470 Fäkalienproben ergab O.B.I.S. Salmonella die folgenden Ergebnisse:

Sensitivität 100 %

Spezifität 81,5 %–95,4 % †

† Je nach verwendetem Galvanisierungsmedium.

EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTS

O.B.I.S. Salmonella ist für den Nachweis von PYRase- und NPA-Aktivität in gramnegativen, Oxidase-negativen Mikroorganismen bestimmt. Es kann als Screening verwendet werden, um *Salmonella* spp. von *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia* und *Morganella* spp. auf den folgenden selektiven enterischen Medien zu unterscheiden: Brilliant Grüner Agar (modifiziert) (CM0329), MLCB-Agar (CM0783), XLD-Medium (CM0469), Bismut Sulfit Agar (CM0201), SS Agar (CM0099), SS Agar modifiziert (CM0533) und Hektoen Enterischer Agar (CM0419) oder Desoxycholat Citrat-Agar (CM0035).

Einige wenige Isolate von H₂S-positiven *Escherchia coli* können auf MLCB-Agar als Salmonella erscheinen. Diese Organismen zeigen die gleichen Ergebnisse wie *Salmonella* spp. im O.B.I.S. Salmonella-Test, da ihnen ebenfalls sowohl die PYRase- als auch die NPA-Aktivität fehlt.

Das neutrale Rot in Desoxycholat-Citrat-Agar (CM0035) kann auf dem O.B.I.S. eine rosa Farbe erzeugen. Testkarte. Um jede Verwechslung mit der positiven violetten Reaktion im PYR-Test zu vermeiden, sollte das Ergebnis mit einem positiven Kontrollstamm verglichen werden.

E. coli und Indol-positive *Proteus* spp., die aus Medien mit einem hohen Tryptophangehalt gewonnen werden, können eine blau-grüne Farbentwicklung auf der PYR-Testfläche erzeugen. Dies ist ein negatives Ergebnis.

Citrobacter youngae kann ein PYRase-negatives Ergebnis liefern und das gleiche Ergebnis wie *Salmonella* spp. zeigen.

O.B.I.S.-Salmonella bieten eine zuverlässige präsumtive Identifizierung von Salmonella, ersetzen aber nicht die Notwendigkeit einer vollständigen biochemischen Untersuchung.

REFERENZEN

- 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 and Vibrionaceae. *J. Clin. Microbiol.* 31. 1946–1948.
- Mulczyk, M. and Szewczuk, A. (1970). Pyrrolidonyl Peptidase in Bacteria: A New Colorimetric Test for Differentiation of Enterobacteriaceae. *J. Gen. Microbiol.* 61. 9–13.
- Inoue, K., Miki, K., Tamura, K. and Sakazaki, R. (1996). Evaluation of L-Pyrrolidonyl Peptidase Paper Strip Test for Dif-ferentiation of Members of the Family Enterobacteriaceae, Particularly *Salmonella* spp. *J. Clin. Microbiol.* 34. 1811–1812.
- Giammanco, G., Pignato, S. and Agodi, A. (1985). A Simple Chromogenic Test For Rapid Screening of *Proteus* and *Providencia* Bacteria. *Microbiologica.* 8. 395–397.
- Druggan, P., Roberts, P. and Swaine, D. (1999). A Rapid Chromogenic Method for the Differentiation of *Citrobacter* spp. and *Salmonella* spp. Directly from Enteric Media. abstr. C-444 p71 Abstr. 99th Annual Meet. Am. Soc. Microbiol. 1999

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
	Vor Licht schützen



Gebrauchsanweisung X5862D 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.



Key Code TSMX5862D
www.thermofisher.com

Europa +800 135 79 135
CA 1 855 805 8539

US 1 855 236 0910
ROW +31 20 794 7071

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



REF ID0570M.....▽60

USO PREVISTO

Oxoid Biochemical Identification System (O.B.I.S.) Salmonella è un test colorimetrico, qualitativo e rapido per la determinazione dell'attività della piroglutamato aminopeptidasi (PYRasi) e della nitrofenilalanina deaminasi (NPA). Il test viene utilizzato per l'identificazione presuntiva delle specie *Salmonella* in terreni 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

Il test O.B.I.S. Salmonella offre un metodo di screening rapido per distinguere *Salmonella* spp. da quegli organismi che esibiscono un aspetto coloniale simile su comuni terreni selettivi per *Salmonella*. Ciò riduce la necessità di una completa identificazione biochimica di tutte le colonie sospette.

L'identificazione della *Salmonella* si basa sull'isolamento primario dell'organismo su terreni enterici selettivi. Tuttavia, ci sono molti altri generi tra le Enterobacteriaceae in grado di crescere anche su tali terreni e che possono avere una morfologia della colonia simile alle salmonelle.

La mancanza di attività PYRasi e NPA in *Salmonella* spp. può essere utilizzata per differenziarle da *Citrobacter* spp., che presenta attività PYRasi^(1,2,3) e da *Proteus*, *Morganella* e *Providencia* spp., che presentano attività NPA⁽⁴⁾.

L'area PYRasi sul cartoncino di reazione O.B.I.S. Salmonella è impregnata di acido L-piroglutamico 7-ammido-4-metilcumarina⁽⁵⁾. La dimetilaminocinnamaldeide è usata come reagente per lo sviluppo del colore. L'idrolisi enzimatica del substrato produce un colore viola con l'aggiunta di O.B.I.S. PYR Developing Solution⁽⁶⁾.

L'area NPA sul cartoncino di reazione O.B.I.S. Salmonella è impregnata di nitrofenilalanina. La deaminazione del reagente è evidenziata da un colore arancione-marrone quando viene aggiunta O.B.I.S. NPA Developing Solution (idrossido di sodio 0,25 M).

COMPONENTI DELL'O.B.I.S. SALMONELLA KIT (ID0570M)

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

ID0571M O.B.I.S. Salmonella Test Cards:

2 sacchetti di plastica richiudibili, ciascuno contenente 10 cartoncini di reazione e un essiccante.

Ci sono 3 test su ciascun cartoncino di reazione, ciascuno composto da 2 aree di reazione.

Ogni area di reazione designata come PYR è impregnata con acido L-piroglutamico 7-ammido-4-metilcumarina all'1% p/v.

Ogni area di reazione designata come NPA è impregnata con nitrofenilalanina al 5% p/v.

ID0200M O.B.I.S. PYR Developing Solution

1 fialone contagocce contenente 7 ml di acido cloridrico 1 M e dimetilaminocinnamaldeide allo 0,5% p/v.

ID0210M O.B.I.S. NPA Developing Solution

1 fialone contagocce contenente 7 ml di idrossido di sodio 0,25 M.

ID0100M O.B.I.S. Buffer Solution

1 fialone contagocce contenente 7 ml di PBS (Phosphate Buffered Saline).

Istruzioni per l'uso (IFU).

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Ansa microbiologica.

Organismi per il controllo della qualità positivi e negativi.

PRECAUZIONI

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

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

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

La O.B.I.S. PYR Developing Solution (ID0200M) contiene un acido.

La O.B.I.S. NPA Developing Solution (ID0210M) contiene una base debole. Evitare il contatto diretto indossando adeguati dispositivi di protezione. Se i reagenti vengono a contatto con la pelle, le mucose o gli occhi, lavare immediatamente l'area sciacquando accuratamente con abbondante acqua.

Smaltire i cartoncini di reazione O.B.I.S. e le anse microbiologiche 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 O.B.I.S. Salmonella deve essere conservato a 2-8 °C. Lasciare che i sacchetti si equilibrino a temperatura ambiente prima dell'apertura per evitare la formazione di condensa sui cartoncini di reazione.

Aprire i sacchetti tagliando in corrispondenza della tacca tra la chiusura terminale e l'apertura con chiusura lampo.

Una volta aperto, rimuovere il numero di cartoncini di reazione necessari per il test immediato (eseguendo il test entro i successivi 10 minuti) e richiudere immediatamente il sacchetto.

Proteggere i cartoncini di reazione dalla luce.

Se sono necessari meno test, tagliare il cartoncino di reazione e riporre le parti non utilizzate nel sacchetto. Non rimettere le parti usate nel sacchetto perché saranno contaminate.

Se conservati come indicato, i reagenti O.B.I.S. Salmonella 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:

Test PYRasi

1. **Controllo positivo** - Utilizzare un ceppo noto positivo per la piroglutamato aminopeptidasi come *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.

2. **Controllo negativo** - Utilizzare un ceppo noto per la piroglutamato aminopeptidasi negativa come *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis ATCC® 13076™ (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Seguire il metodo indicato nella procedura di test.

Assicurarsi che non si formi alcun colore viola entro 20 secondi.

Test NPA

1. **Controllo positivo** - Utilizzare un ceppo noto per la fenilalanina deaminasi positiva come *Proteus mirabilis* ATCC™43071 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607073). Seguire il metodo indicato nella procedura di test.

Assicurarsi che si formi un colore marrone-arancione entro 20 secondi.

2. **Controllo negativo** - Utilizzare un ceppo noto per la fenilalanina deaminasi negativa come *Citrobacter freundii* ATCC™8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800) o *Salmonella* ser enteritidis ATCC™13076 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Seguire il metodo indicato nella procedura di test.

Assicurarsi che non si formi un colore marrone-arancione entro 20 secondi.

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

CAMPIONI

Possono essere testate colonie con una tipica morfologia di *Salmonella* sui seguenti terreni: Brilliant Green Agar (Modified) (CM0329), MLCB Agar (CM0783), XLD Medium (CM0469), SS Agar (CM0099), SS Agar Modified (CM0533), Hektoen Enteric Agar (CM0419)*, Desoxycholate Citrate Agar (CM0035) o Bismuth Sulphite Agar (CM0201).

Le colonie testate dovrebbero essere Gram-negative, ossidasi negative.

Le piastre devono essere testate entro un massimo di un'ora dalla rimozione dall'incubatrice.

*È richiesta una procedura di test modificata - vedere di seguito.

PROCEDURA DI TEST E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Nota importante: la nitrofenilalanina impregnata sull'area del test NPA è sensibile alla luce. Evitare l'esposizione alla luce per più di 1 ora.

1. Selezionare una colonia sospetta (0,5 mm o più grande). Applicare la colonia sulle aree del test PYR e NPA (è necessario applicare una colonia sufficiente su ogni area per creare uno striscio visibile).

2. Inumidire entrambe le aree del test con 1 goccia di Buffer Solution (ID0100M).

3. Incubare il cartoncino di reazione inoculato a temperatura ambiente (15-30 °C) per 5 minuti.

4. Dispensare 1 goccia di O.B.I.S. PYR Developing Solution (ID0200M) nell'area di test PYR. Lo sviluppo di un vivido colore viola sopra e intorno alle colonie strisciate entro 20 secondi conferma l'attività di PYRasi.

5. Dispensare 1 goccia di O.B.I.S. NPA Developing Solution (ID0210M) nell'area di test NPA. Lo sviluppo di un colore arancione-marrone sopra e intorno alle colonie strisciate entro 20 secondi conferma l'attività NPA.

Procedura del test modificata - Hektoen Enteric Agar

1. Applicare una colonia sospetta (0,5 mm o più grande) e inoculare entrambe le aree del test PYR e NPA utilizzando un'ansa di plastica. Su ogni area deve essere applicata una colonia sufficiente per creare uno striscio visibile.

2. Inumidire entrambe le aree del test con una goccia di Buffer Solution (ID0100M).

3. Mettere il cartoncino inoculato in un sacchetto/busta di plastica adatti (circa 75 mm x 100 mm).

4. Incubare a 37 °C ± 2 °C per 30 minuti.

5. Dispensare una goccia di O.B.I.S. PYR Developing Solution (ID0200M) sull'area di test PYR. Lo sviluppo di un vivido colore viola sopra e intorno alle colonie strisciate entro 20 secondi indica una reazione POSITIVA. (Il colore viola può essere leggermente oscurato dalla pigmentazione nera del solfuro ferroso se viene selezionata una colonia nera.)

6. Una reazione NEGATIVA è indicata da nessun cambiamento di colore dello striscio di inoculo.

7. 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.

8. Dispensare una goccia di NPA Developing Solution (ID0210M) sull'area del test NPA. Lo sviluppo di un vivido colore arancione-marrone sopra e intorno alle colonie strisciate entro 20 secondi indica una reazione POSITIVA. (Il colore arancione-marrone può essere leggermente oscurato dalla pigmentazione nera del solfuro ferroso se viene selezionata una colonia nera.)

9. Nessun cambiamento nel colore dello striscio o l'intensificazione del colore verde-blu dovuto all'acidificazione del blu di bromotimolo nella colonia sono indice di una reazione NPA NEGATIVA.

Tabella di interpretazione

Reazioni tipiche degli organismi:

Organismo	PYRasi	NPA
<i>Salmonella</i> spp.	-	-
<i>Citrobacter</i> spp.	+	-
<i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> e <i>Providencia</i> spp.	-	+

Risultati degli studi (dati in archivio)

Risultati dalla cultura pura:

Organismo	N. di campioni testati	Reazione positiva alla PYRasi	Reazione NPA positiva
<i>Salmonella</i> spp.	150	0	0
<i>Citrobacter</i> spp.	56	55*	0
<i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> e <i>Providencia</i> spp.	50	0	50

* Un ceppo di *Citrobacter* ha dato una reazione PYRasi negativa. Questo è stato confermato come *Citrobacter youngae*, mostrando così un risultato veramente negativo.

In una prova di 470 campioni fecali O.B.I.S. *Salmonella* ha dato i seguenti risultati:

Suscettibilità 100%

Specificità 81,5%-95,4% †

† A seconda del terreno su piastra utilizzato.

LIMITAZIONI DEL TEST

O.B.I.S. *Salmonella* è destinata alla rilevazione dell'attività PYRasi e NPA in microrganismi Gram-negativi e ossidasi negativi. Può essere utilizzato come screening per differenziare *Salmonella* spp. da *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia* e *Morganella* spp. dai terreni enterici selettivi seguenti: Brilliant Green Agar (Modified) (CM0329), MLCB Agar (CM0783), XLD Medium (CM0469), Bismuth Sulphite Agar (CM0201), SS Agar (CM0099), SS Agar Modified (CM0533) and Hektoen Enteric Agar (CM0419) o Desoxycholate Citrate Agar (CM0035).

Alcuni isolati di *Escherchia Coli* H,S positivi possono apparire come salmonelle su MLCB Agar. Questi organismi mostreranno gli stessi risultati di *Salmonella* spp. nel test O.B.I.S. *Salmonella* poiché mancano anche dell'attività PYRasi e NPA.

Il rosso neutro in Desoxycholate Citrate Agar (CM0035) può produrre un colore rosa sul cartoncino di reazione O.B.I.S. Per evitare confusione con la reazione viola positiva nel test PYR, il risultato deve essere confrontato con un ceppo di controllo positivo.

E.coli e *Proteus* spp. indolo-positivo ottenuti da terreni ad alto contenuto di triptofano possono generare uno sviluppo di colore blu-verde sull'area del test PYR. Questo è un risultato negativo.















Citrobacter youngae può produrre un risultato PYRasi-negativo e mostrare lo stesso risultato di *Salmonella* spp.

O.B.I.S. *salmonella* fornisce un'identificazione presuntiva affidabile delle salmonelle, ma non sostituisce la necessità di test biochimici completi.

BIBLIOGRAFIA

- 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.
- Mulczyk, M. and Szewczuk, A. (1970). Pyrrolidonyl Peptidase in Bacteria: A New Colorimetric Test for Differentiation of Enterobacteriaceae. J. Gen. Microbiol. 61. 9–13.
- Inoue, K., Miki, K., Tamura, K. and Sakazaki, R. (1996). Evaluation of L-Pyrrolidonyl Peptidase Paper Strip Test for Dif-ferentiation of Members of the Family Enterobacteriaceae, Particularly *Salmonella* spp. J. Clin. Microbiol. 34. 1811–1812.
- Giammanco, G., Pignato, S. and Agodi, A. (1985). A Simple Chromogenic Test For Rapid Screening of *Proteus* and *Providencia* Bacteria. Microbiologica. 8. 395–397.
- Druggan, P., Roberts, P. and Swaine, D. (1999). A Rapid Chromogenic Method for the Differentiation of *Citrobacter* spp. and *Salmonella* spp. Directly from Enteric Media. abstr. C-444 p71 Abstr. 99th Annual Meet. Am. Soc. Microbiol. 1999

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
	Proteggere dalla luce



IFU X5862D 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 TSMX5862D
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.) Salmonella



REF ID0570M.....▽ 60

PRZEZNACZENIE

System Identyfikacji Biochemicznej (O.B.I.S.) Oxoid dla bakterii z rodzaju *Salmonella* to szybki, jakościowy test kolorymetryczny do oznaczania aktywności aminopeptydazy piroglutamylowej (PYRase) i deaminazy nitrofenyloalaniny (NPA). Test służy do wstępnej identyfikacji gatunków *Salmonella* z podłoża posiewowych. Wyrób jest wykorzystywany w procesie diagnostycznym, aby pomóc klinicytom 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

Test O.B.I.S. dla bakterii z rodzaju *Salmonella* oferuje szybką metodę przesiewową w celu rozróżnienia gatunku *Salmonella* od innych organizmów wykazujących podobny wygląd kolonii na popularnych podłożach selektywnych dla *Salmonella*. Zmniejsza to potrzebę pełnej identyfikacji biochemicznej podejrzanych kolonii.

Identyfikacja *Salmonelli* polega na pierwotnej izolacji drobnoustroju na selektywnych pożywkach jelitowych. Jednakże istnieje kilka innych rodzajów wśród Enterobacteriaceae, które również mogą rosnąć na takich podłożach i które mogą mieć podobną morfologię kolonii do *Salmonelli*.

Brak aktywności PYRase i NPA w gatunku *Salmonella* można wykorzystać do odróżnienia od gatunku *Citrobacter*, który wykazuje aktywność PYRase^(1,2,3) oraz *Proteus*, *Morganella* i *Providencia*, które charakteryzują się aktywnością NPA⁽⁴⁾.

Obszar PYRase na karcie testowej O.B.I.S. na salmonellę jest nasycony 7-amido-4-metylokumaryną kwasu L-piroglutaminowego⁽⁵⁾. Aldehyd dimetyloaminocynamonowy jest używany jako odczynnik wywołujący kolor. Hydroliza enzymatyczna substratu daje fioletowy kolor po dodaniu roztworu wywołującego PYR systemu O.B.I.S.⁽⁵⁾.

Obszar NPA na karcie testowej O.B.I.S. na salmonellę jest nasycony nitrofenyloalaniną. Pojawienie się koloru pomarańczowo-brązowego świadczy o deaminacji odczynnika po dodaniu roztworu rozwijającego NPA (0,25 M wodorotlenek sodu) systemu O.B.I.S.

KOMPONENTY O.B.I.S. ZESTAWU DO SALMONELLI (ID0570M)

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

ID0571M — Karty testowe O.B.I.S. dla *Salmonelli*:

2 plastikowe woreczki do wielokrotnego zamykania, każdy zawierający 10 kart testowych i środek osuszający.

Na każdej karcie testowej znajdują się 3 testy, każdy składający się z 2 obszarów reakcji.

Każdy obszar reakcji oznaczony jako PYR jest nasycony 1% w/v 7-amido-4-metylokumaryną kwasu L-piroglutaminowego.

Każdy obszar reakcji oznaczony jako NPA jest nasycony 5% w/v nitrofenyloalaniną.

ID0200M — Roztwór rozwijający PYR testu O.B.I.S.

1 butelka z zakraplaczem zawierająca 7 ml 1M kwasu solnego i 0,5% w/v aldehydu dimetyloaminocynamonowego.

ID0210M — Roztwór rozwijający NPA testu O.B.I.S.

1 butelka z zakraplaczem zawierająca 7 ml 0,25 M wodorotlenku sodu.

ID0100M — Roztwór buforowy testu O.B.I.S.

1 butelka z zakraplaczem zawierająca 7 ml soli fizjologicznej buforowanej fosforanem (PBS).

Instrukcja użytkowania.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZONE

Eza mikrobiologiczna.

Organizmy kontroli jakości pozytywnej i negatywnej.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

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

Nie używać odczynników testu O.B.I.S. dla *Salmonelli* po upływie podanego terminu ważności.

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

Roztwór rozwijający PYR (ID0200M) testu O.B.I.S. zawiera kwas.

Roztwór rozwijający rozwijający NPA (ID0210M) testu O.B.I.S. zawiera słabą zasadę. Należy unikać bezpośredniego kontaktu poprzez noszenie odpowiedniego sprzętu ochronnego osobiste. W razie kontaktu odczynników ze skórą, błoną śluzową lub oczami natychmiast umyć daną okolicę dużą ilością wody.

Zużyte karty testowe O.B.I.S. i ezy mikrobiologiczne 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.

PRZECHOWYWANIE I OTWIERANIE

Zestaw O.B.I.S. dla *Salmonelli* 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 nacięcie między uszczelką na końcu woreczka a otworem zatrzaskowym.

Po otwarciu wyjąć wymaganą liczbę kart testowych do natychmiastowego badania (testowanie w ciągu następnych 10 minut) i natychmiast ponownie zamknąć woreczek.

Chronić karty testowe przed światłem.

Jeśli wymaganych jest mniej testów, należy odciąć kartę i włożyć niewykorzystane części do woreczka. Nie zwracać zużytych części do woreczka, ponieważ będą skażone.

Przechowywane zgodnie ze wskazaniem, odczynniki O.B.I.S. dla *Salmonelli* zachowują swoją aktywność do daty ważności podanej na opakowaniu.

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI

Każdego dnia używania zestawu należy wykonać następującą procedurę kontrolną:

Test PYRaz

1. **Kontrola dodatnia** — Użyć znanego szczepu dodatniego dla aminopeptydazy piroglutamylowej takiego jak *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.

2. **Kontrola ujemna** — Użyć znanego szczepu ujemnego dla piroglutamylaminopeptydazo-aminopeptydazy takiego jak *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serowar Enteritidis ATCC® 13076™ (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.

Test NPA

1. **Kontrola dodatnia** — Użyć znanego szczepu dodatniego dla deaminazy fenylalaniny takiego jak *Proteus mirabilis* ATCC™43071 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4607073). Postępować zgodnie z metodą podaną w procedurze testowej.

Upewnić się, że w ciągu 20 sekund utworzy się pomarańczowo-brązowy kolor.

2. **Kontrola ujemna** — Użyć znanego szczepu ujemnego dla deaminazy fenylalaniny takiego jak *Citrobacter freundii* ATCC™8090 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4601800) lub *Salmonella* ser enteritidis ATCC™13076 (Thermo Scientific™ Culti-Loops™ R4608200). Postępować zgodnie z metodą podaną w procedurze testowej.

Upewnić się, że w ciągu 20 sekund nie utworzy się pomarańczowo-brązowy kolor.

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

PRÓBKİ

Można badać kolonie o typowej morfologii *Salmonella* na następujących podłożach: Agar z zielenią brylantową (zmodyfikowany) (CM0329), agar MLCB (CM0783), podłoże XLD (CM0469), agar SS (CM0099), zmodyfikowany agar SS (CM0533), agar dla bakterii jelitowych Hektoen (CM0419)*, agar dezoksycholanowo-cytrynowy (CM0035) lub agar bizmutowo-siarczynowy (CM0201).

Badane kolonie powinny być Gram-ujemne i oksydazo-ujemne.

Płytki należy testować maksymalnie godzinę po wyjęciu z inkubatora.

*Wymagana zmodyfikowana procedura testowa — patrz poniżej.

PROCEDURA TESTOWA I INTERPRETACJA WYNIKÓW

Ważna uwaga: Nitrofenyloalanina zaimpregnowana na obszarze testowym NPA jest wrażliwa na światło. Należy unikać ekspozycji na światło przez ponad 1 godzinę.

1. Wybrać jedną podejrzaną kolonię (0,5 mm lub większą). Nałożyć kolonię na obszary testowe PYR i NPA (należy nałożyć tyle kolonii na każdy obszar, aby uzyskać widoczny rozmaz).

2. Zwilżyć oba obszary testowe 1 kroplą roztworu buforowego (ID0100M).

3. Inkubować inokulowaną kartę testową w temperaturze pokojowej (15–30°C) przez 5 minut.

4. Dodać 1 kroplę roztworu rozwijającego PYR (ID0200M) testu O.B.I.S. do obszaru testowego PYR. Pojawienie się w ciągu 20 sekund intensywnie fioletowego koloru na i wokół rozmazanej kolonii potwierdza aktywność PYRase.

5. Dodać 1 kroplę roztworu rozwijającego NPA (ID0210M) testu O.B.I.S. do obszaru testowego NPA. Pojawienie się w ciągu 20 sekund pomarańczowo-brązowego koloru na i wokół rozmazanej kolonii potwierdza aktywność NPA.

Zmodyfikowana procedura testowa — Agar dla bakterii jelitowych Hektoen

1. Nałożyć jedną podejrzaną kolonię (0,5 mm lub większą) i zaszczyć obszary testowe PYR i NPA za pomocą plastikowej ezy. Na każdy obszar należy nałożyć wystarczającą ilość kolonii, aby uzyskać widoczny rozmaz.

2. Zwilżyć oba obszary testowe jedną kroplą roztworu buforowego (ID0100M).

3. Umieścić zaszczeploną kartę w odpowiedniej plastikowej torbie/koszulce (około 75 mm x 100 mm).

4. Inkubować w 37°C±2°C przez 30 minut.

5. Dodać 1 kroplę roztworu rozwijającego PYR (ID0200M) testu O.B.I.S. do obszaru testowego PYR. Pojawienie się w ciągu 20 sekund intensywnie fioletowego koloru na i wokół rozmazanej kolonii oznacza reakcję DODATNIA. (Fioletowy kolor może być nieco przyćmiony czarną pigmentacją siarczku żelazawego, jeśli wybrano czarną kolonię).

6. Reakcja UJEMNA oznacza brak zmiany koloru rozmazu z inokulum.

7. 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*.

8. Dodać jedną kroplę roztworu rozwijającego NPA (ID0210M) na obszar testowy NPA. Pojawienie się w ciągu 20 sekund intensywnie pomarańczowo-brązowego koloru na i wokół rozmazanej kolonii oznacza reakcję DODATNIA. (Pomarańczowo-brązowy kolor może być nieco przyćmiony czarną pigmentacją siarczku żelazawego, jeśli wybrano czarną kolonię).

9. Brak zmiany barwy rozmazu lub nasilenie zielono-niebieskiej barwy spowodowane zakwaszeniem błękitu bromotymolowego w kolonii wskazuje na UJEMNĄ reakcję NPA.

Tabela interpretacji

Typowe reakcje organizmu:		
Organizm	PYRaz	NPA
<i>Gatunek Salmonella</i>	–	–
<i>Gatunek Citrobacter</i>	+	–
<i>Gatunki Proteus, Morganella i Providencia</i>	–	+

Wyniki badania (dane z badań własnych)

Wyniki z czystego posiewu:

Organizm	Liczba przebadanych próbek	Dodatnia reakcja PYRazy	Dodatnia reakcja NPA
<i>Gatunek Salmonella</i>	150	0	0
<i>Gatunek Citrobacter</i>	56	55*	0
<i>Gatunki Proteus, Morganella i Providencia</i>	50	0	50

* Jeden szczep *Citrobacter* dał ujemną reakcję PYRase. Został zaklasyfikowany jako *Citrobacter youngae*, co pokazuje prawdziwie negatywny wynik.

W badaniu 470 próbek kału test O.B.I.S. dla *Salmonelli* dał następujące wyniki:

Wrażliwość 100 %

Specyficzność 81,5 %–95,4% †

† W zależności od użytego podłoża posiewowego.

OGRANICZENIA TESTU

Test O.B.I.S. *Salmonella* jest przeznaczona do wykrywania aktywności PYRazy i NPA w drobnoustrojach Gram-ujemnych, oksydazo-ujemnych. Może być używany jako badanie przesiewowe do odróżniania gatunku *Salmonella* od *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia* oraz *Morganella* z następujących selektywnych podłoży do bakterii jelitowych: agar z zielenią brylantową (zmodyfikowany) (CM0329), agar MLCB (CM0783), podłoże XLD (CM0469), agar bizmutowo-siarczynowy (CM0201), agar SS (CM0099), zmodyfikowany agar SS (CM0533), agar dla bakterii jelitowych Hektoen (CM0419) lub agar dezoksycholanowo-cytrynowy (CM0035).

Niektóre izolaty *Escherchia coli* H₂S-dodatnie mogą wyglądać jak salmonelle na podłożu agarowym MLCB. Te organizmy pokażą te same wyniki, co gatunek *Salmonella* w teście na salmonellę O.B.I.S., ponieważ nie wykazują aktywności PYRase i NPA.

Neutralna czerwień na agarze dezoksycholanowo-cytrynowym (CM0035) może dawać różowe zabarwienie karty testowej O.B.I.S. Aby uniknąć pomyłki z dodatnią fioletową reakcją w teście PYR, wynik należy porównać z dodatnim szczepem kontrolnym.

E coli i indolo-dodatni gatunek *Proteus* uzyskane z pożywek o wysokiej zawartości tryptofanu mogą wytworzyć niebiesko-zielone zabarwienie na obszarze testu PYR. To wynik negatywny.

Citrobacter youngae może dać wynik PYRase-ujemny i pokazać ten sam wynik, co gatunek *Salmonella*.

Test O.B.I.S. na salmonellę zapewnia wiarygodną wstępną identyfikację salmonelli, ale nie stanowi zastępstwa dla pełnych badań biochemicznych.

PIŚMIENNICTWO

1. 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.
2. Mulczyk, M. and Szewczuk, A. (1970). Pyrrolidonyl Peptidase in Bacteria: A New Colorimetric Test for Differentiation of Enterobacteriaceae. *J. Gen. Microbiol.* 61. 9–13.
3. Inoue, K., Miki, K., Tamura, K. and Sakazaki, R. (1996). Evaluation of L-Pyrrolidonyl Peptidase Paper Strip Test for Differentiation of Members of the Family Enterobacteriaceae, Particularly *Salmonella* spp. *J. Clin. Microbiol.* 34. 1811–1812.
4. Giammanco, G., Pignato, S. and Agodi, A. (1985). A Simple Chromogenic Test For Rapid Screening of *Proteus* and *Providencia* Bacteria. *Microbiologica.* 8. 395–397.
5. Druggan, P., Roberts, P. and Swaine, D. (1999). A Rapid Chromogenic Method for the Differentiation of *Citrobacter* spp. and *Salmonella* spp. Directly from Enteric Media. abstr. C-444 p71 Abstr. 99th Annual Meet. Am. Soc. Microbiol. 1999

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 użytkownika
	Nie używać w przypadku uszkodzonego opakowania
	Zawartość wystarcza na <n> testów
	Wyprodukowano przez
	Autoryzowany przedstawiciel w Europie
	Oceniono zgodność w Wielkiej Brytanii
	Znak CE
	Chronić przed światłem.



IFU X5862D 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.



Clave TSMX5862D
www.thermofisher.com

Europa +800 135 79 135 EE. UU. 1 855 236 0910
CA 1 855 805 8539 Resto del mundo +31 20 794 7071

Biochemical Identification System (OBIS) Oxoid™ Salmonella

ES

REF ID0570M.....▽60

USO PREVISTO

El Biochemical Identification System (OBIS) Salmonella Oxoid es una prueba rápida colorimétrica cualitativa para determinar actividad de piroglutamil aminopeptidasa (PIRasa) y nitrofenilalanina desaminasa (NPA). Esta prueba se utiliza para la identificación presuntiva de especies de *Salmonella* en 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.

El dispositivo no está automatizado, es exclusivamente para uso profesional y no es un diagnóstico complementario.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba OBIS Salmonella ofrece un método de cribado rápido para distinguir especies de *Salmonella* de organismos cuyas colonias tienen una apariencia parecida en medios selectivos para *Salmonella* de uso habitual. Esto reduce la necesidad de una identificación bioquímica completa de las colonias sospechosas.

La identificación de *Salmonella* se basa en el aislado primario del organismo en medios entéricos selectivos. Sin embargo, existen otros géneros entre las Enterobacteriaceae que también pueden crecer en dichos medios y generar colonias con morfologías similares a las de las salmonelas.

Es posible utilizar la falta de actividad de PIRasa y NPA en *Salmonella* spp. para diferenciarla de *Citrobacter* spp., que presenta actividad de PIRasa^(1,2,3) y *Proteus*, *Morganella* y *Providencia* spp., que tienen actividad de NPA⁽⁴⁾.

El área de PIRasa de la tarjeta de prueba OBIS Salmonella está impregnada con ácido L-piroglutámico y 7-amido-4-metilcumarina⁽⁵⁾. El dimetilaminocinamaldehído se utiliza como reactivo para desarrollo de color. La hidrólisis enzimática del sustrato genera un color púrpura al añadir la solución reveladora PIR OBIS⁽⁵⁾.

El área de NPA de la tarjeta de prueba OBIS Salmonella está impregnada con nitrofenilalanina. La desaminación del reactivo se traduce en un color naranja-marrón al añadir la solución reveladora de NPA OBIS (hidróxido de sodio 0,25 M).

COMPONENTES DEL KIT OBIS SALMONELLA (ID0570M)

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

Tarjetas de prueba OBIS Salmonella ID0571M:

2 bolsitas de plástico de abrir y cerrar; contienen 10 tarjetas de prueba y un desecante cada una.

Cada tarjeta de prueba contiene 3 pruebas y cada una de ellas consiste en 2 áreas de reacción.

Cada área de reacción designada como PIR está impregnada con ácido L-piroglutámico 7-amido-4-metilcumarina al 1 % p/v.

Cada área de reacción designada como NPA está impregnada con nitrofenilalanina al 5 % p/v.

Solución reveladora OBIS PIR ID0200M

1 frasco con gotero que contiene 7 ml de ácido clorhídrico 1 M y dimetilaminocinamaldehído al 0,5 % p/v.

Solución reveladora OBIS NPA ID0210M

1 frasco con gotero que contiene 7 ml de hidróxido de sodio 0,25 M.

Solución tampón OBIS ID0100M

1 frasco con gotero que contiene 7 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS).

Instrucciones de uso (IFU).

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Asa microbiológica.

Organismos de control de calidad positivo y negativo.

PRECAUCIONES

Este producto es para uso en diagnóstico *in vitro* exclusivamente.

No utilizar los reactivos de OBIS Salmonella más allá de la fecha de caducidad indicada.

Los materiales de las muestras pueden contener organismos patógenos; manipúlelos con las precauciones adecuadas.

La solución reveladora OBIS PIR (ID0200M) contiene un ácido.

La solución reveladora OBIS NPA (ID0210M) contiene una base débil. Evite el contacto directo usando equipos de protección adecuados. Si los reactivos entran en contacto con la piel, las mucosas o los ojos, lavar inmediatamente la zona enjuagando con agua abundante.

Es necesario desechar las tarjetas de prueba OBIS y las asas microbiológicas como residuos biopeligrosos para incinerar o tratar en autoclave durante 15 minutos a 121 °C.

Consulte la hoja de datos de seguridad (SDS) en el sitio web de la empresa y la etiqueta del producto para obtener información sobre los componentes potencialmente peligrosos.

Es necesario leer las instrucciones y seguirlas atentamente.

Cualquier incidente grave que se produzca en relación con el producto se debe notificar al fabricante y a la autoridad competente del Estado Miembro donde esté establecido el usuario o el paciente.

En caso de avería, no utilice el dispositivo.

ALMACENAMIENTO Y ABERTURA

Se debe almacenar el kit OBIS Salmonella a 2 °C-8 °C. Deje que las bolsitas se templen a temperatura ambiente antes de abrirlas para evitar que se forme condensación sobre las tarjetas de prueba.

Abra las bolsitas cortando por la muesca entre el sellado del extremo y la abertura del cierre deslizante.

Después de abrirlas, extraiga el número de tarjetas de prueba necesarias para las pruebas de forma inmediata (pruebas dentro de los 10 minutos siguientes) y vuelva a sellar la bolsita inmediatamente.

Proteja las tarjetas de prueba de la luz.

Si se necesitan menos pruebas, corte la tarjeta de prueba y devuelva las porciones no utilizadas a la bolsita. No devuelva porciones utilizadas a la bolsita, ya que estarán contaminadas.

Si se almacenan según las indicaciones, los reactivos de OBIS Salmonella conservan su actividad hasta la fecha de caducidad indicada en la caja.

PROCEDIMIENTO DE CONTROL DE CALIDAD

Es necesario realizar los procedimientos de control siguientes cada día que se vaya a usar el kit.

Prueba de PIRasa

- Control positivo:** utilice una cepa conocida positiva por piroglutamilaminopeptidasa, como *Citrobacter freundii* ATCC™8090 (Thermo Scientific™ Multi-Loops™ R4601800). Siga el método indicado en el procedimiento de prueba.

Asegúrese de que se forme un color púrpura dentro del plazo de 20 segundos.

- Control negativo:** utilice una cepa conocida negativa por piroglutamilaminopeptidasa como *Salmonella enterica* subesp. *enterica* serovariedad Enteritidis ATCC® 13076™ (Thermo Scientific™ Multi-Loops™ R4608200). Siga el método indicado en el procedimiento de prueba.

Asegúrese de que no forme un color púrpura dentro del plazo de 20 segundos.

Prueba de NPA

- Control positivo:** utilice una cepa conocida positiva por fenilalanina desaminasa como *Proteus mirabilis* ATCC™43071 (Thermo Scientific™ Multi-Loops™ R4607073). Siga el método indicado en el procedimiento de prueba.

Asegúrese de que se forme un color naranja-marrón dentro del plazo de 20 segundos.

- Control negativo:** utilice una cepa conocida negativa por fenilalanina desaminasa como *Citrobacter freundii* ATCC™8090 (Thermo Scientific™ Multi-Loops™ R4601800) o *Salmonella* serovariedad enteritidis ATCC™13076 (Thermo Scientific™ Multi-Loops™ R4608200). Siga el método indicado en el procedimiento de prueba.

Asegúrese de que no se forme un color naranja-marrón dentro del plazo de 20 segundos.

No utilice los reactivos si las reacciones con los organismos de control son incorrectas.

MUESTRAS

Se pueden probar las colonias con morfología típica de *Salmonella* sobre los medios siguientes: agar verde brillante (modificado) (CM0329), agar MLCB (CM0783), medio XLD (CM0469), agar SS (CM0099), agar SS modificado (CM0533), agar entérico Hektoen (CM0419)*, agar citrato desoxicolato (CM0035) o agar sulfuro de bismuto (CM0201).

Las colonias probadas deben ser gramnegativas y negativas por oxidasa.

Se debe realizar la prueba en las placas como máximo una hora después de extraerlas de la incubadora.

* Se necesita un procedimiento de prueba modificado; consultar más adelante.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Nota importante: La nitrofenilalanina impregnada en la zona de prueba de NPA es sensible a la luz. Se debe evitar exponerla a la luz durante más de 1 hora.

- Seleccione una colonia sospechosa (0,5 mm o mayor). Aplique la colonia a las áreas de prueba de PIR y NPA (se debe aplicar colonia suficiente a cada área como para dejar un rastro visible).

- Humedezca las dos áreas de prueba con 1 gota de solución tampón (ID0100M).

- Incube la tarjeta de prueba inoculada a temperatura ambiente (15 °C–30 °C) durante 5 minutos.

- Dispense 1 gota de solución reveladora OBIS PIR (ID0200M) en el área de la prueba PIR. El desarrollo de un color púrpura intenso encima y alrededor de la colonia esparcida dentro de los 20 segundos siguientes confirma la actividad de PIRasa.

- Dispense 1 gota de solución reveladora OBIS NPA (ID0210M) en el área de la prueba NPA. El desarrollo de un color naranja-marrón encima y alrededor de la colonia esparcida dentro de los 20 segundos siguientes confirma la actividad de NPA.

Procedimiento de prueba modificado: agar entérico Hektoen

- Aplique una colonia sospechosa (0,5 mm o mayor) e inocule las áreas de prueba PIR y NPA utilizando un asa de plástico. Es necesario aplicar una cantidad suficiente de la colonia en cara área para que quede un frotis visible.

- Humedezca las dos áreas de prueba con una gota de solución tampón (ID0100M).

- Coloque la tarjeta inoculada en una bolsa/sobre de plástico adecuada (75 mm x 100 mm aproximadamente).

- Incube durante 30 minutos a 37 °C ± 2 °C.

- Dispense una gota de solución reveladora OBIS PIR (ID0200M) en el área de la prueba PIR. El desarrollo de un color púrpura intenso encima y alrededor de la colonia esparcida dentro de los 20 segundos siguientes indica una reacción POSITIVA. (El color púrpura se puede ver oscurecido ligeramente por la pigmentación negra del sulfuro ferroso si se ha seleccionado una colonia negra).

- Una reacción NEGATIVA se indica mediante la ausencia de cambios de color en el frotis de inóculo.

- El desarrollo de un color verdoso dentro del plazo de un minuto se considera una reacción a NEGATIVA a PIR y se debe a la presencia de indol. Estos organismos no son especies de *Salmonella*.

- Dispense una gota de solución reveladora de NPA (ID0210M) en el área de la prueba NPA. El desarrollo de un color naranja-marrón encima y alrededor de la colonia esparcida dentro de los 20 segundos siguientes indica una reacción POSITIVA. (El color naranja-marrón se puede ver oscurecido ligeramente por la pigmentación negra del sulfuro ferroso si se ha seleccionado una colonia negra).

- Si no hay ningún cambio en el color del frotis, o una intensificación del color verde azulado a causa de la acidificación del azul de bromotimol en la colonia, esto indica una reacción NEGATIVA a NPA.

Tabla de interpretación

Reacciones típicas de los organismos:

Organismo	PIRasa	NPA
<i>Salmonella</i> spp.	–	–
<i>Citrobacter</i> spp.	+	–
<i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> y <i>Providencia</i> spp.	–	+

Resultados del ensayo (datos de archivo)

Resultados a partir de cultivo puro:

Organismo	N.º de muestras analizadas	Reacción positiva a PIRasa	Reacción positiva a NPA
<i>Salmonella</i> spp.	150	0	0
<i>Citrobacter</i> spp.	56	55*	0
<i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> y <i>Providencia</i> spp.	50	0	50

* Una cepa de *Citrobacter* dio lugar a una reacción negativa a PIRasa. Se confirmó que se trataba de *Citrobacter youngae*, con lo cual se trata de un resultado negativo verdadero.

En un ensayo con 470 muestras fecales, OBIS Salmonella dio los resultados siguientes:

Sensibilidad 100 %

Especificidad 81,5 %-95,4 % †

† Según el medio en placas utilizado.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

OBIS Salmonella está destinada a la detección de actividad de PIRasa y NPA en microorganismos gramnegativos y negativos por oxidasa. Se puede utilizar como cribado para distinguir especies de *Salmonella* de especies de *Citrobacter*, *Proteus*, *Providencia* y *Morganella* spp. sobre los medios entéricos selectivos siguientes: agar verde brillante (modificado) (CM0329), agar MLCB (CM0783), medio XLD (CM0469), agar sulfito de bismuto (CM0201), agar SS (CM0099), agar SS modificado (CM0533) y agar entérico Hektoen (CM0419) o agar citrato desoxicolato (CM0035).

Algunos aislados de *Escherichia coli* positivos por H₂S pueden parecer salmonelas en agar MLCB. Estos organismos presentan los mismos resultados que las especies de *Salmonella* en la prueba OBIS Salmonella, ya que también carecen de actividad de PIRasa y NPA.

El color rojo neutro del agar citrato desoxicolato (CM0035) puede producir un color rosa en la tarjeta de prueba OBIS. Para evitar cualquier confusión con la reacción positiva de color púrpura de la prueba PIR, se debe comparar el resultado con el de una cepa de control positivo.

E. coli y las especies de *Proteus* positivas por indol obtenidas en medios con un contenido elevado de triptófano pueden desarrollar un color azul verdoso en el área de prueba PIR. Se trata de un resultado negativo.

Citrobacter youngae puede dar lugar a un resultado negativo frente a PIRasa y mostrar el mismo resultado que las especies de *Salmonella*.

OBIS Salmonella proporciona una identificación presuntiva fiable de Salmonella, pero no elimina la necesidad de realizar pruebas bioquímicas completas.

REFERENCIAS

- 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.
- Mulczyk, M. and Szewczuk, A. (1970). Pyrrolidonyl Peptidase in Bacteria: A New Colorimetric Test for Differentiation of Enterobacteriaceae. *J. Gen. Microbiol.* 61. 9–13.
- Inoue, K., Miki, K., Tamura, K. and Sakazaki, R. (1996). Evaluation of L-Pyrrolidonyl Peptidase Paper Strip Test for Dif-ferentiation of Members of the Family Enterobacteriaceae, Particularly *Salmonella* spp. *J. Clin. Microbiol.* 34. 1811–1812.
- Giammanco, G., Pignato, S. and Agodi, A. (1985). A Simple Chromogenic Test For Rapid Screening of *Proteus* and *Providencia* Bacteria. *Microbiologica.* 8. 395–397.
- Druggan, P., Roberts, P. and Swaine, D. (1999). A Rapid Chromogenic Method for the Differentiation of *Citrobacter* spp. and *Salmonella* spp. Directly from Enteric Media. abstr. C-444 p71 Abstr. 99th Annual Meet. Am. Soc. Microbiol. 1999

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
	Proteger de la luz



IFU X5862D

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.