

HOLOGIC
AccuProbe Staphylococcus aureus
Culture Identification Test

AccuProbe Staphylococcus aureus Culture Identification Test

er et analysesæt til identifikation af *Staphylococcus aureus* fra faste dyrkningsmedier.
For yderligere oplysninger henvises til Hologics forskrift, der er vedlagt analysesættet.

REAGENSER & MATERIALER

Bemærk: For oplysninger om enhver fare og sikkerhedserklæringer, der kan være tilknyttet reagenser, henvises til Safety Data Sheet Library (Arkivet med sikkerhedsdataark) på www.hologic.com/sds.

Probe Reagent Tubes, 4 x 5 proberør hver med Staphylococcus aureus DNA-probe. Frysetørret.
Varenr. 102875.

Følgende reagenser skal bestilles separat:

Culture Identification Reagent Kit (Varenr. 102800).

Detection Reagent Kit (Varenr. 201791).

VIGTIGT: Undgå direkte kontakt med disse reagenser. Skyld øjne, hud og slimhinder med rigeligt vand efter kontakt. Hvis reagenserne spildes skyldes området med vand før aftørring.

NØDVENDIGT Udstyr

1 µL sterile plastic øjepodenåle eller tilsvarende

Vandbad eller tørinkubator til 37 og 60 ± 1°C

Mikropipetter eller repetitionssprøjter på 50 og 300 µL

Mekanisk mikser (f. eks. Thermolyne MAXI-MIX I eller II)

Luminometer: AccuLDR(PAL), Leader I, Leader 50i, Leader 450 eller tilsvarende

OPBEVARING & HOLDBARHED

Probe Reagent Tubes skal opbevares i folieposerne ved 2-8°C. Er holdbare uåbnet indtil den anførte udløbsdato. Efter åbning af folieposen skal den forsegles omhyggeligt. Husk at placere tørremidlet i folieposen. Probe Reagent proberør skal anvendes inden for 2 måneder efter åbning af folieposen og før udløbsdatoen. *Reagenserne må ikke fryses.*

PRØVEFORBEREDELSE

Kolonier med morfologi som Staphylococcus fra selektive faste og flydende medier kan anvendes. Så snart synlig vækst forekommer kan prøver udtages, men væksten bør have fundet sted mellem 24 og indtil 72 timer.

Der udtages materiale svarende i volumen til mindst 1µL (steril plastic eller platin øjepodenål).

Hvis en enkelt koloni udtages skal den være mindst 1 mm i diameter. Pødepinde må ikke bruges, da der herved sker en fortynding. *Undgå at medtage vækstmediet.*

Eventuelt inokuleres en ny selektiv agar for at sikre isolatets renhed.

HOLOGIC
AccuProbe Staphylococcus aureus
Culture Identification Test

FREM GANGSMÅDE

A. PRØVEPRÆPARATION

1. Det nødvendige antal **Probe Reagent** proberør udtages og mærkes med identifikation og lågene fjernes. Folieposerne lukkes omhyggeligt. *Tørremidlet må ikke fjernes.*
2. **50 µL Reagent 1 (Lysis Reagent)** tilsættes hvert Probe Reagent proberør.
3. Kolonimasse udtages med en 1µL øjepodenål og tilsættes hvert Probe Reagent proberør. Drej øjepodenålen så kolonimasse blandes med lyseringsreagenset. Øjepodenålen fjernes og lågene påsættes. Proberøret omrystes på mekanisk mikser.
4. Proberørene inkuberes enten i vandbad ved **37°C i 5 minutter** eller i tørinkubator ved 37°C i mindst 10 minutter.

B. HYBRIDISERING

1. **50 µL Reagent 2 (Hybridization Buffer)** tilsættes alle Probe Reagent proberør. Et eventuelt bundfald i Reagent 2 opløses ved opvarmning til 37 - 60°C.
2. Lågene påsættes Probe Reagent proberørene, hvorefter de blandes på en mekanisk mikser og inkuberes i vandbad/tørinkubator ved **60 ± 1°C i mindst 15 minutter og højst 20 minutter.**

C. SEPARATION

1. **300 µL Reagent 3 (Selection Reagent)** tilsættes hvert Probe Reagent proberør, som derefter blandes grundigt på mekanisk mikser.
Det er vigtigt at omrystningen er grundig!
2. Probe Reagent proberørene inkuberes i vandbad/tørinkubator ved **60 ± 1°C i mindst 5 minutter og højst 6 minutter.**
3. Probe Reagent proberørene afkøles i mindst 5 minutter ved rumtemperatur før aflæsning foretages.
Aflæsningen skal foretages inden for 1 time efter udtagning fra vandbad/tørinkubator.

D. MÅLING

1. Vælg protokollen for *L. monocytogenes*/*Campylobacter* for det pågældende luminometer.
2. Proberørene aftørres på ydersiden med en fugtig klud eller papirserviet.
3. Når måling har fundet sted fjernes proberøret fra instrumentet.

HOLOGIC
AccuProbe Staphylococcus aureus
Culture Identification Test

RESULTATBEREGNING

AccuLDR(PAL) luminometret angiver resultatet i PLU (Photometric Light Units) samt indikationen POS eller NEG. Leader I, Leader 50i og Leader 450 angiver resultatet i RLU (Relative Light Units) samt indikationen POS eller NEG.

Prøver med et resultat på ≥ 1500 PLU med AccuLDR(PAL) eller ≥ 50.000 RLU med Leader I, Leader 50i eller Leader 450 luminometeret betragtes som positive (POS).

Resultater mellem 1200-1499 PLU med AccuLDR(PAL) eller 40.000-49.999 RLU med Leader I, Leader 50i eller Leader 450 luminometeret bør analyseres igen.

KONTROLLER

Det er God Laboratorie Praksis (GLP) at medtage kendte og sporbare negative og positive kontroller. Som negativ kontrol kan anvendes *S. epidermis* (f. eks. fra American Type Culture Collection (ATCC) nr. 14990) og som positiv kontrol kan anvendes *Staph. aureus* (f. eks. ATCC nr. 12600).
Kontrollerne analyseres på samme måde som bakterieprøverne.

Den negative kontrol bør give værdier < 600 PLU med AccuLDR(PAL) eller < 20.000 RLU med Leader I, Leader 50i eller Leader 450 luminometeret.

Den positive kontrol bør give værdier > 1.500 PLU med AccuLDR(PAL) eller > 50.000 RLU med Leader I, Leader 50i eller Leader 450 luminometeret.

Hvis den negative kontrol giver værdier > 600 PLU med AccuLDR(PAL) eller > 20.000 RLU med Leader I, Leader 50i eller Leader 450 luminometeret kan det skyldes utilstrækkelig blanding efter tilsætning af Reagent 3 (Selection Reagent) eller ved analyse af blandede kolonityper. Da blandede kolonityper kan optræde, bør en repræsentativ prøve udstryges på en passende agar, således at forekomsten af blandede kolonityper kan vurderes og reanalyseres.

Hvis den positive kontrol giver værdier < 1500 PLU med AccuLDR(PAL) eller < 50.000 RLU med Leader I, Leader 50i eller Leader 450 luminometeret kan det skyldes et utilstrækkeligt celleantal eller blandede eller gamle kolonier. Da blandede kolonityper kan optræde, bør en repræsentativ prøve udstryges på en passende agar, således at forekomsten af blandede kolonityper kan vurderes og reanalyseres.

 **IVD**
Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 (USA)



EC REP
Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands