

Gebruiksaanwijzing Diatabs™

Revisie:
Publicatiedatum:
Taalversie:

DBV0008D
06.05.2024
Nederlands

Diatabs™

Tabletten voor de identificatie van bacteriën

Fabrikant

ROSCO Diagnostica ApS, Stensmosevej 24A, DK-2620 Albertslund, Denemarken, www.rosco-diagnostica.com

Gebruik

Te gebruiken voor de kwalitatieve *in vitro* bepaling van microbiële eigenschappen ten behoeve van de identificatie van micro-organismen. De identificatietests zijn leverbaar in losse tabletvorm.

Principe van de procedure

Diatabs zijn onder te verdelen in twee groepen: Diatabs voor gebruik op agar voedingsbodems en Diatabs die in vloeistof opgelost worden. De meeste Diatabs bieden de mogelijkheid van snelle tests door middel van chromogene enzymatische reacties en gemodificeerde conventionele testmethoden. Met Diatabs die op agar voedingsbodems toegepast worden, is het mogelijk de natuurlijke gevoeligheidspatronen of vereiste groeifactoren vast te stellen. Na het verstrijken van de incubatietijd worden de voedingsbodems onderzocht en wordt de zonediameter van de remming rondom de tabletten gemeten en vervolgens vergeleken met de zone interpretatietabellen (gevoelig/resistent) voor de verschillende tabletten. Diatabs voor oplossing in vloeistof zijn gebaseerd op de enzymatische eigenschappen van de micro-organismen die door de verschillende indicatorsystemen gedetecteerd worden.¹

Meer informatie over Diatabs voor de identificatie van bacteriën treft u aan in de User's Guide Diatabs² op de website www.rosco-diagnostica.com

Bewaarvoorschriften

- 1) Controleer bij ontvangst het temperatuursymbool dat op het etiket staat vermeld. Diatabs die gemerkt zijn met een temperatuursymbool van 2 °C tot 8 °C dienen in de koelkast bewaard te worden, terwijl Diatabs waarvoor volgens het temperatuursymbool op het etiket een bovenwaarde van 25 °C geldt, bij kamertemperatuur bewaard dienen te worden.
- 2) Indien de Diatabs in de koelkast bewaard worden, dient de verpakking voor het openen gedurende ca. 30 – 60 minuten op kamertemperatuur gebracht te worden, om condensatie van water op de tabletten te voorkomen.
- 3) Bewaar Diatabs in de verpakking, vermijd blootstelling aan licht en voorkom een hoge vochtigheidsgraad. Laat eventueel vochtabsorberende materiaal (silica gelcapsule) in de verpakking zitten.

De vervaldatum die op de verpakking vermeld staat is alleen van toepassing voor verpakkingen waarvan het deksel gesloten is en die bij de voorgeschreven temperatuur bewaard zijn.

Reagentia

Diatabs zijn tabletten met een diameter van 6 of 9 mm die verpakt zijn in buisjes met een inhoud van 15, 25 of 50 tabletten. De 9 mm tabletten zijn aan beide zijden voorzien van een unieke 5-cijferige stempelcode. De 6 mm tabletten die gebruikt worden op een agar voedingsbodem zijn voorzien van een kleurcode en Diatabs voor oplossing in vloeistof zijn niet voorzien van een code. De gebruiker dient de inhoud van de testbuisjes te merken bij gebruik van verschillende Diatabs.

Voorzorgsmaatregelen

Houd u aan de gebruiksvoorschriften. Geen van deze tabletten is bedoeld voor de bepaling van gevoeligheid. De resultaten die met Diatabs verkregen worden zijn niet alleen afhankelijk van het gebruikte type Diatabs, maar ook van het gebruik van het geschikte inoculum, de incubatietijd en de interpretatie van de zonediameter of de kleurverandering. Deze producten dienen uitsluitend door vakkundig geschoold laboratoriumpersoneel gebruikt te worden. Gebruik een pincet om de Diatabs uit de verpakking te nemen.

Diatabs, testbuisjes en agar voedingsbodems die mogelijk pathogene stoffen bevatten, dienen als microbiologisch afval beschouwd en behandeld te worden. Er dienen voorzorgsmaatregelen getroffen te worden om microbiologische besmetting te voorkomen en gebruikte monsters, containers, media en testbuisjes dienen na gebruik zorgvuldig ontsmet te worden.

Monsters

Het monster dient genomen en behandeld te worden volgens de geldende voorschriften. Het monster dient een zuivere kweek te zijn die volledig kenmerkend is voor de te onderzoeken species.

Procedure

Geleverd materiaal: Diatabs volgens aanduiding op etiket.

Benodigde, niet meegeleverde materialen: Kweekmedium, testbuisjes, reagentia, stammen voor kwaliteitscontrole en laboratoriumuitrusting vereist voor de uitvoering van een identificatie, zoals entnaalden, wattenstaafjes, pipetten en monsterbuisjes.

I. Diatabs voor agar voedingsbodems

De gevoeligheid van micro-organismen die geïsoleerd zijn uit klinische monsters voor antibiotica en andere stoffen kan van belang zijn tijdens de bepaling. Het is mogelijk om de micro-organismen te kenmerken en te onderscheiden door de omvang van de zonediameter te meten na een kweek met een standaard inoculum dat op een specifieke agar voedingsbodem wordt aangebracht.

I.1. Inoculumbereiding

Maak een suspensie van verschillende morfologisch identieke kolonies van een agar voedingsbodem met een kweekduur van 18 – 24 uur (niet-selectief) in 4 tot 5 ml 0,9% NaCl-oplossing totdat een troebelheid van 0,5 McFarland standaard bereikt wordt.

I.2. Beënten

Binnen 15 minuten doopt u vervolgens een steriel wattenstaafje in de bijgestelde suspensie en maakt u het inoculum van de wattendrager (swab) vrij door krachtig druk uit te oefenen tegen de binnenzijde van de reageerbuis. De wattendragers dienen binnen 15 minuten gebruikt te worden om er de agar voedingsbodem die in Tabel 1 opgenomen is mee te beënten. Ent het gedroogde oppervlak van de daarvoor bestemde voedingsbodem door het gehele oppervlak van de voedingsbodem ermee te bestrijken. Laat het oppervlak van de voedingsbodem vervolgens 3 à 5 minuten en maximaal 15 minuten aandrogen alvorens de Diatabs op de agar voedingsbodem te plaatsen.

I.3. Incubatie en aflezen van voedingsbodems/platen

Plaats de voedingsbodem met de van agar voorziene zijde naar boven toe binnen 15 minuten in een incubator en volg de voorschriften die gelden voor de verschillende species in Tabel 1 (aërobe, anaërobe bacteriën, of in 5-10% CO₂). Bekijk de voedingsbodems na een incubatietijd van een nacht, tenzij hiervoor in Tabel 1 andere voorschriften opgenomen zijn.

De diameters van de zones waarin gehele remming optreedt worden gemeten volgens het protocol dat geldt ten aanzien van globale visuele beoordeling. De zones worden gemeten en afgerond op hele millimeters.

RESULTATEN:

Vergelijk de bepaalde zonediameter met die in Tabel 1. De resultaten voor een specifiek monster zijn afhankelijk van het interpretatiegebied te omschrijven als Gevoelig (S) of Resistent (R). Gebruik Tabel 1 om een voorlopige identificatie van de bacteriestam te verkrijgen.

II. Diatabs voor gebruik in vloeistof

II.1. Inoculumbereiding

Het organisme waarmee u de test wilt uitvoeren dient 18-24 uur oud te zijn en een zuivere kweek te zijn. Langzaam groeiende isolaten kunnen getest worden op een voedingsbodem van 48 uur.

Bereid in een reageerbuisje een zware suspensie (tenminste met een troebelheidsstandaard van McFarland 4) van het te beoordelen organisme in 0,25 ml zoutoplossing. Er kunnen meerdere Diatabs beënt worden met hetzelfde inoculum.

II.2. Beënten

Breng een Diatabs in het reageerbuisje aan. Bij bepaalde Diatabs dienen er verder 3 druppels steriele paraffineolie aan het reageerbuisje toegevoegd te worden (zie opgave in Tabel 2).

II.3. Incubatie en aflezen van reageerbuisjes

Sluit het reageerbuisje af en plaats het gedurende 4 uur, tot de volgende dag of volgens de instructies in Tabel 2 in een incubator met een temperatuur van 35-37 °C.

Controleer na de incubatietijd of er verkleuring opgetreden is. Bij bepaalde Diatabs dient een reagens toegevoegd te worden alvorens de kleur af te lezen is en bepaalde Diatabs kunnen twee reacties zichtbaar maken.

Nadat u de kleurverandering geïnterpreteerd heeft, dient u het reagens toe te voegen en de nieuwe kleur af te lezen (zie specificaties in Tabel 2).

RESULTATEN:

De resultaten van Diatabs voor gebruik in vloeistof worden gemeten aan de hand van kleurreacties. In Tabel 2 worden de kleurreacties bij negatieve en positieve stammen aangeduid. Noteer het testresultaat op een hiervoor bestemd rapportageformulier.

III. Diatabs waarvoor een afwijkende procedure geldt

Oxidase

Plaats een dik filterpapier in een lege petrischaal en leg de Diatabs er bovenop. Breng een druppel fysiologische zoutoplossing op de tablet aan en wacht vervolgens 60 seconden alvorens een tweede druppel fysiologische zoutoplossing boven op de tablet aan te brengen. Indien het filterpapier nat is, verdeelt u de kolonie met een plastic naald over het natte filterpapier en laat u het gebied rondom de rand van de tablet ongeveer 3-8 mm vrij. Aflezen na verloop van 2 minuten. De Diatabs en het filterpapier zijn voor meerdere isolaten achtereenvolgens te gebruiken.

Factor X, V en X+V

Tabletten met groeifactoren, hemine (X-Factor) en NAD (V-Factor) of beide factoren samen worden toegepast voor de differentiatie van *Haemophilus* spp. De drie tabletten worden op de agar voedingsbodem aangebracht; Factor X en Factor V op een onderlinge afstand van 2 cm en Factor X+V op iets grotere afstand ten opzichte van de 2 andere. Gebruik uitsluitend medium dat deze twee groeifactoren niet bevat (bijv. TSA agar).

Plaats de petrischalen gedurende 18-24 uur tot de volgende dag in een incubator met een temperatuur van 35-37 °C en controleer of er al dan niet sprake is van ontwikkeling in de omgeving van een tablet.

Indien het organisme alleen Factor X nodig heeft om zich te ontwikkelen, zal het zich alleen ontwikkelen in de nabijheid van de tabletten met de factoren X en X + V; heeft het daarentegen alleen behoefte aan Factor V, dan zal het zich alleen ontwikkelen in de buurt van tabletten die de factoren V en X + V bevatten; indien zowel de factor X als de factor V nodig is voor de ontwikkeling, dan zal het zich uitsluitend ontwikkelen in de omgeving van de tabletten die de factoren X + V bevatten.¹

INTERNE KWALITEITSCONTROLE

De kwaliteitscontroleprocedure d.m.v. ATCC stammen of bekende positieve of negatieve stammen dient gehanteerd te worden om de kwaliteit van de tabletten te bewaken. De kwaliteitscontrole dient uitgevoerd te worden overeenkomstig de voor laboratoria van kracht zijnde protocollen voor kwaliteitscontrole. Negatieve/positieve kleurreacties of gevoelige/resistente stammen zijn in de tabellen opgenomen en hieraan is af te leiden of de gehele procedure op de juiste manier uitgevoerd is. In geval van a-typische kwaliteitsresultaten dienen de resultaten niet gerapporteerd te worden.

BEPERKINGEN VAN DE METHODE

1. Er dienen uitsluitend zuivere kweken van micro-organismen toegepast te worden aangezien een gemengde microbiële populatie a-typische resultaten zal opleveren.
2. Het gebruik van Diatabs voor de identificatie van micro-organismen en de interpretatie van testresultaten dient overgelaten te worden aan een laborant die een opleiding heeft genoten op het gebied van algemene microbiologische onderzoeksmethoden en oordeelkundig gebruik maakt van kennis, ervaring, monstergegevens en overige vastomlijnde procedures alvorens de identiteit van het isolaat te rapporteren.
3. Resultaten van aanvullende tests kunnen van invloed zijn op het uiteindelijke identificatieresultaat.
4. De tabletten zijn niet bedoeld voor gebruik bij gevoeligheidsonderzoek.
5. De betrouwbaarheid van de Diatabs is gebaseerd op bekende *in vitro* microbiële eigenschappen van specifieke, klinisch belangrijke bacteriesoorten ¹. In geval van a-typische of inconsistente resultaten wordt aanbevolen de test herhaald uit te voeren. Onverwachte resultaten dienen aangetekend te worden en de geïsoleerde stalen kunnen naar een referentielab gestuurd worden voor verder onderzoek.

BRONVERMELDING:

- 1) Versalovic J et al.: Manual of Clinical Microbiology, 10th ed. 2011, ASM, Washington DC.
- 2) Diatabs User's Guide. www.rosco-diagnostics.com