



PATHOGENIC SYSTEM

System for the identification of pathogenic microorganisms from pharyngeal, cutaneous, auricular and ophthalmic swabs, expectorate and other clinical specimens.

Ref. 71679

Contents	Page
Italiano	1
English	6

Code F00006
Rev.2 / 18.07.2008

Sistema per la ricerca e l'identificazione presuntiva di microrganismi patogeni isolabili da tamponi faringei, cutanei, auricolari, oftalmici, espettorato ed altri campioni clinici

DESCRIZIONE

PATHOGENIC SYSTEM è un sistema a 18 pozzetti contenenti substrati biochimici essiccati per la ricerca e l'identificazione presuntiva di microrganismi patogeni e di dermatofiti provenienti da tamponi faringei, cutanei, auricolari, oftalmici, espettorato, essudato, ferite, ed altri campioni clinici.

Il sistema viene inoculato direttamente con la sospensione del campione clinico ed incubato a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ per 18-24 ore (fino a 72 ore per la ricerca dei dermatofiti).

I test per la ricerca e l'identificazione dei microrganismi presenti nel campione vengono interpretati valutando il viraggio di colore dei vari pozzetti ed eseguendo test di conferma immunologici e microscopici.

CONTENUTO DELLE CONFEZIONI

La confezione contiene:

20 Sistemi PATHOGENIC SYSTEM	1 Provetta contenente 20 pellet liofilizzati di COAGULASE TEST
20 Fiale di Soluzione Fisiologica (7 mL/fiala)	1 Foglio istruzione
1 Cartuccia contenente 20 dischetti PYR-Disc	1 Modulo TEST RESULTS FORM
1 Fiala di PYR-Reagent (5 mL)	

PRODOTTI NECESSARI NON CONTENUTI NEL KIT

STREPTO A CARD (cod.96418)	OXIDASE TEST DISCS (cod.88004)
ENTEROSYSTEM 18R REAGENT (cod.80252) (Olio di vasellina; Reagente test Indolo; Reagenti test VP)	TRYPTIC SOY BROTH (cod.21104) o BRAIN HEART INFUSION (cod.20104) Materiale vario per laboratorio di microbiologia

CONFIGURAZIONE

Il sistema presenta la configurazione indicata in tabella n°1.

Tabella n°1

Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di Streptococco Gruppo A
1- PYR *	Test pyroglutamic- β -naphthylamide
2- SGA *	Test immunocromatografico per conferma <i>Streptococcus pyogenes</i> (Gruppo A)
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di <i>Staphylococcus aureus</i>
3- STA*	<i>Staphylococcus aureus</i>
4- COA*	Test coagulasi per conferma <i>Staphylococcus aureus</i>
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di <i>Haemophilus spp</i>
5- HAE	<i>Haemophilus spp</i>
6- X+V	Terreno colturale per conferma <i>Haemophilus spp</i>
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di <i>Escherichia coli</i>
7- ESC	<i>Escherichia coli</i>
8- IND *	Test indolo per conferma <i>Escherichia coli</i>
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di <i>Proteus spp / Providencia spp</i>
9- PRO	<i>Proteus spp / Providencia spp</i>
10- UR	Test urea per conferma <i>Proteus spp / Providencia spp</i>
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di <i>Pseudomonas spp</i>
11- PSE	<i>Pseudomonas spp</i>
12- OX *	Test citocromo-ossidasi per conferma <i>Pseudomonas spp</i> .
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di microrganismi del gruppo KES
13- KES	Gruppo KES (<i>Klebsiella spp, Enterobacter spp, Serratia spp</i>)
14- VP*	Test Voges Proskauer per conferma microrganismi Gruppo KES
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di <i>Enterococcus faecalis</i>
15- STR	<i>Enterococcus faecalis</i>
16- SB	Terreno colturale per conferma <i>Enterococcus faecalis</i>
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di <i>Candida spp</i>
17- CAN	<i>Candida spp</i>
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di DERMATOFITI
18- DTM	Dermatofiti

* : Aggiungere il reagente indicato per l'esecuzione del test.

• : Eseguire il test immunocromatografico

: Aggiungere olio di vasellina

PRINCIPIO DEL METODO

PATHOGENIC SYSTEM permette la ricerca e l'identificazione dei microrganismi frequentemente isolati da tamponi faringei, cutanei, auricolari, oftalmici, espettorato, essudato da ascessi e ferite, ed altri campioni clinici, quali: *Streptococcus pyogenes* (Gruppo A), *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus spp./Providencia spp.*, *Pseudomonas spp.*, microrganismi del gruppo KES (*Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*), *Enterococcus faecalis*, *Candida spp.* e dermatofiti del genere *Microsporium spp.*, *Trichophyton spp.*, *Epidermophyton spp.* etc.

- La presenza di *Streptococcus pyogenes* viene evidenziata dal viraggio di colore al rosa-rosso del pozzetto **1-PYR** dopo aggiunta del reagente PYR¹ e confermata attraverso il test immunocromatografico **STREPTO A CARD**² (cod. 96418) eseguito da coltura microbica direttamente dal pozzetto **2-SGA**.
- La presenza di *Staphylococcus aureus* viene evidenziata dal viraggio di colore dal rosso al giallo o arancio del pozzetto **3-STA** e confermata valutando la presenza di coagulo nel pozzetto **4-COA** (Coagulasi test positivo).
Ceppi di *Enterococcus spp.* possono determinare il viraggio di colore dal rosso al giallo del pozzetto **3-STA** senza presenza di coagulo (Coagulasi test negativo).
- La presenza di *Haemophilus spp.* viene evidenziata dal viraggio di colore dal giallo-arancio al rosso-fucsia del pozzetto **5-HAE**⁴ e confermata mediante isolamento su terreno selettivo (Chocolate Bacitracin Agar, cod. 11023) e test biochimici dal pozzetto **6-X+V**.
- La presenza di *Escherichia coli* viene evidenziata dal viraggio di colore dal grigio-rosso al blu del pozzetto **7-ESC** e dalla comparsa di un anello rosa-rosso dopo l'aggiunta del Reagente di KOVAC'S nel pozzetto **8-IND**⁴.
- La presenza di *Proteus spp./Providencia spp.* viene evidenziata dal viraggio di colore dal giallo al marrone-nero del pozzetto **9-PRO**⁴ e confermata dal viraggio di colore dal giallo al rosso-fucsia del pozzetto **10-UR**.
- La presenza di *Pseudomonas spp.* viene evidenziata dal viraggio di colore dal giallo al verde torbido del pozzetto **11-PSE** e confermata attraverso il test biochimico con **OXIDASE TEST DISCS** (cod. 88004) eseguito dal pozzetto **12-OX**⁴.
- La presenza di microrganismi del gruppo KES (*Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*) viene evidenziata dal viraggio di colore dal viola al giallo del pozzetto **13-KES** e dal test di Voges-Proskauer eseguito dal pozzetto **14-VP**.
L'identificazione dei vari microrganismi deve essere confermata mediante isolamento su terreni selettivi per enterobatteri e test biochimici⁴.
- La presenza di *Enterococcus faecalis* viene evidenziata dal viraggio di colore dal giallo al nero del pozzetto **15-STR** e confermata dal viraggio di colore al rosso del pozzetto **16-SB**.
- La presenza di *Candida spp.* viene evidenziata dal viraggio di colore dal verde al giallo e dalla presenza di sedimento nel pozzetto **17-CAN**⁵. Osservare al microscopio la presenza di clamidospore ed ife miceliari.
- La presenza di dermatofiti viene evidenziata dal viraggio di colore dal giallo al rosso del pozzetto **18-DTM** prolungando l'incubazione a 36 ± 1 °C del sistema per almeno 72 ore. Osservare al microscopio la presenza di spore ed ife miceliari.

COMPOSIZIONE

Tabella n°2

Pozzetto	Contenuto
1- PYR	Terreno colturale per evidenziare la presenza dell'enzima L-pyroglyutamyl-aminopeptidasi (PYR) dello <i>Streptococco</i> β-emolitico di Gruppo A
2- SGA	Terreno colturale per crescita <i>Streptococcus pyogenes</i> (Gruppo A)
3- STA	Terreno colturale per crescita <i>Staphylococcus aureus</i>
4- COA	Terreno colturale per test della coagulasi
5- HAE	Terreno colturale per isolamento selettivo di <i>Haemophilus spp.</i>
6- H+V	Terreno colturale per la crescita <i>Haemophilus spp.</i>
7- ESC	Terreno colturale per crescita <i>Escherichia coli</i>
8- IND	Terreno colturale per esecuzione test dell'indolo
9- PRO	Terreno colturale per crescita <i>Proteus spp./Providencia spp.</i>
10- UR	Terreno colturale per l'idrolisi dell'urea
11- PSE	Terreno colturale per crescita <i>Pseudomonas spp.</i>
12- OX	Terreno colturale per test citocromo ossidasi
13- KES	Terreno colturale per la crescita di microrganismi del Gruppo KES (<i>Klebsiella spp.</i> , <i>Enterobacter spp.</i> , <i>Serratia spp.</i>)
14- VP	Terreno colturale per test di Voges Proskauer
15- STR	Terreno colturale per l'isolamento selettivo di <i>Enterococcus faecalis</i>
16- SB	Terreno colturale per crescita <i>Enterococcus faecalis</i>
17- CAN	Terreno colturale per crescita <i>Candida spp.</i>
18- DTM	Terreno colturale per crescita dermatofiti

Physiological Solution (g/L): Cloruro di sodio 0,9 g; Acqua distillata 1000.0 mL; pH 7.0 ± 0.2

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Il materiale clinico da analizzare proveniente da tamponi faringei, auricolari, oftalmici, espettorato, essudato da ascessi e ferite, ed altri campioni clinici, deve essere inviato al laboratorio per la semina nel sistema **PATHOGENIC SYSTEM** subito dopo il prelievo. Evitare la conservazione in frigorifero anche per tempi limitati in quanto le basse temperature possono danneggiare la vitalità di alcuni microrganismi particolarmente sensibili pregiudicando il risultato finale.

PROCEDURA DEL TEST

PREPARAZIONE DEL CAMPIONE CLINICO

- Dopo aver effettuato il prelievo del materiale clinico, immergere il tampone in una provetta di brodo nutritivo (es. Tryptic Soy Broth cod.21104, Brain Heart Infusion Broth cod. 20104, Nutrient Broth cod.20103)
- Lasciare il tampone in immersione per 5'.
- Incubare la provetta in termostato a 36 ± 1 °C per 2-4-6 ore.

NB: E' opportuno seminare il campione clinico in esame su un terreno colturale di agar sangue.

INOCULO DEL SISTEMA

1. Prelevare un sistema dal suo involucro e portarlo a temperatura ambiente.
2. Annotare nome del paziente, data di inizio esame e tipo di materiale clinico.
3. Trasferire 0.5 mL di brodocoltura del campione clinico in una fiala di *Physiological Solution* contenuta nel kit.
4. Inserire un disco di PYR-Disc, contenuto nel kit, nel pozzetto **1-PYR**.
5. Inoculare 0.2 mL (4 gocce) di sospensione del campione in ciascun pozzetto del sistema **PATHOGENIC SYSTEM**.
6. Coprire con due gocce di OLIO DI VASELLINA (cod. 80252)il pozzetto **10-UR**.
7. Coprire il sistema con l'apposito coperchio ed incubare a 36 ± 1 °C per 18-24 ore.
8. Nella necessità di ricercare i dermatofiti prolungare l'incubazione del sistema per 72 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Al termine dell'incubazione:

1. Introdurre 2 gocce di Reagente PYR nel pozzetto **1-PYR**. Attendere 1 minuto ed osservare la comparsa di una colorazione rosa-rosso del dischetto.
2. Eseguire il test rapido immunocromatografico **STREPTO A CARD**, seguendo le indicazioni della metodica (cod. 96418), sulla coltura microbica nel pozzetto **2-SGA** per conferma presenza *Streptococco* β -emolitico di Gruppo A.
3. Osservare il viraggio di colore del pozzetto **3-STA**, interpretando il risultato servendosi della tabella n°3. In caso di reazione positiva (colore del pozzetto giallo-arancio) inserire un pellet liofilizzato di Coagulase Test, contenuto nel kit, nel pozzetto **4-COA**. Incubare il sistema per 4-6 ore e osservare la formazione di coagulo nel pozzetto **4-COA** (coagulase test positivo) per conferma presenza *Staphylococcus aureus*.
4. Osservare il viraggio di colore del pozzetto **5-HAE**, interpretando il risultato servendosi della tabella n°3.
5. Eseguire un test di isolamento microbico prelevando un'ansata di brodocoltura dal pozzetto **6-X+V** e seminare su piastra selettiva (Chocolate Bacitracin Agar, cod. 11023). Incubare la piastra a 36 ± 1 °C in anaerobiosi, e sulle colonie coltivate eseguire test biochimici per conferma presenza *Haemophilus spp.*
6. Osservare il viraggio di colore del pozzetto **7-ESC**, interpretando il risultato servendosi della tabella n°3.
7. Eseguire il test dell'indolo aggiungendo 2 o 3 gocce di Kovac's Reagent (codice 80252) nel pozzetto **8-IND**. La reazione positiva è data dalla comparsa entro 1 minuto di un anello rosa-rosso nel pozzetto **8-IND**.
8. Osservare il viraggio di colore dei pozzetti **9-PRO**, **10-UR**, interpretando il risultato servendosi della tabella n°3.
9. Osservare il viraggio di colore del pozzetto **11-PSE**, interpretando il risultato servendosi della tabella n°3.
10. Eseguire il test dell'ossidasi introducendo un disco di **OXIDASE TEST DISCS** (cod.88004) nel pozzetto pozzetto **12-OX** ed osservare la comparsa di una colorazione blu-porpora entro 2 minuti per conferma presenza *Pseudomonas spp.*
11. Osservare il viraggio di colore del pozzetto **13-KES**, interpretando il risultato servendosi della tabella n°3.
12. Eseguire il test di Voges Proskauer aggiungendo 2 gocce di alfa-naftolo ed 1 goccia di NaOH 40% (codice 80252) al pozzetto **14-VP** ed attendere 15-20 minuti per la comparsa di una colorazione rosa-rosso.
13. Osservare il viraggio di colore dei pozzetti **15-STR** e **16-SB**, interpretando il risultato servendosi della tabella n°3.
14. Osservare il viraggio di colore del pozzetto **17-CAN**, interpretando il risultato servendosi della tabella n°3. Prelevare una goccia di liquido dal pozzetto **17-CAN**, depositarla su un vetrino portaoggetto e dopo aver deposto il vetrino coprioggetto, osservare al microscopio (40x) la presenza di clamidospore ed ife miceliari per conferma presenza *Candida spp.*
15. Osservare il viraggio di colore del pozzetto **18-DTM** interpretando il risultato servendosi della tabella n°3 e valutare al microscopio (40x) la presenza di clamidospore ed ife miceliali per conferma presenza dermatofiti.
16. Annotare i risultati sul modulo TEST RESULTS FORM (fotocopiare il numero necessario di moduli).

Tabella n°3

Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di Streptococco Gruppo A	Colore pozzetto	
		Reazione positiva	Reazione negativa
1- PYR	Test pyroglutamic-β-naphthylamide	rosa	incolore
2- SGA	Test immunocromatografico per conferma <i>Streptococcus pyogenes</i> (Gruppo A)	due bande rosse	una banda rossa
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di Staphylococcus aureus	Colore pozzetto	
		Reazione positiva	Reazione negativa
3- STA	<i>Staphylococcus aureus</i>	giallo-arancio	rosso
4- COA	Test coagulasi per conferma <i>Staphylococcus aureus</i>	presenza di coagulo	assenza di coagulo
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di Haemophilus spp	Colore pozzetto	
		Reazione positiva	Reazione negativa
5- HAE	<i>Haemophilus spp</i>	rosso	giallo-arancio
6- X+V	Terreno colturale per conferma <i>Haemophilus spp</i>		
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di Escherichia coli	Colore pozzetto	
		Reazione positiva	Reazione negativa
7- ESC	<i>Escherichia coli</i>	blu	grigio-rosso
8- IND	Test indolo per conferma <i>Escherichia coli</i>	rosa-rosso	giallo
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di Proteus spp./Providencia spp.	Colore pozzetto	
		Reazione positiva	Reazione negativa
9- PRO	<i>Proteus spp. / Providencia spp.</i>	marrone-nero	giallo
10- UR	Test urea per conferma <i>Proteus spp. / Providencia spp.</i>	giallo	rosso-fucsia
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di Pseudomonas spp.	Colore pozzetto	
		Reazione positiva	Reazione negativa
11- PSE	<i>Pseudomonas spp.</i>	verde torbido	giallo
12- OX	Test citocromo-ossidasi per conferma <i>Pseudomonas spp.</i>	blu	incolore
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di microrganismi del Gruppo KES (<i>Klebsiella spp., Enterobacter spp., Serratia spp.</i>)	Colore pozzetto	
		Reazione positiva	Reazione negativa
13- KES	Gruppo KES (<i>Klebsiella spp., Enterobacter spp., Serratia spp.</i>)	giallo	viola
14- VP	Test Voges Proskauer per conferma microrganismi Gruppo KES	rosa-rosso	incolore
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di Enterococcus faecalis	Colore pozzetto	
		Reazione positiva	Reazione negativa
15- STR	<i>Enterococcus faecalis</i>	marrone-nero	incolore
16- SB	Terreno colturale per conferma <i>Enterococcus faecalis</i>	rosso	incolore
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di Candida spp.	Colore pozzetto	
		Reazione positiva	Reazione negativa
17- CAN	<i>Candida spp.</i>	giallo con sedimento	verde
	Osservazione microscopica (40 x)	presenza di clamidospore e ife miceliali	assenza di clamidospore e ife miceliali
Pozzetto	IDENTIFICAZIONE PRESUNTIVA di DERMATOFITI	Colore pozzetto	
		Reazione positiva	Reazione negativa
18- DTM	Dermatofiti	rosso	giallo
	Osservazione microscopica (40 x)	presenza di spore e ife miceliali	assenza di spore e ife miceliali

N.B.

E' possibile eseguire il test antibiogramma dei vari germi isolati, prelevando una goccia di brodo coltura da pozzetto e procedere secondo il metodo del proprio laboratorio. Non utilizzare per il test antibiogramma i pozzetti dove vengono aggiunti reagenti supplementari quali 1-PYR, 8-IND, 10-UR, 12-OX, 14-VP.

CONTROLLO QUALITÀ

Ogni lotto di **PATHOGENIC SYSTEM** viene sottoposto al controllo qualità utilizzando i microrganismi di riferimento seguenti:

<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 23355
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	ATCC 7901	<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 8100
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 19433
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 25933	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	ATCC 9533

FATTORI CHE POSSONO INVALIDARE I RISULTATI

Imprecisa standardizzazione dell'inoculo; materiale clinico non idoneo; uso di sistemi e reagenti supplementari scaduti; temperatura e tempi di incubazione non rispettati.

PRECAUZIONI

Il prodotto, **PATHOGENIC SYSTEM**, non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente; per un suo corretto impiego si consiglia comunque di consultare la Scheda di Sicurezza. **PATHOGENIC SYSTEM** è un dispositivo monouso da usare solo per uso diagnostico *in vitro*, è destinato ad un ambito professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8 °C nella sua confezione originale. Non conservare vicino a fonti di calore ed evitare eccessive variazioni di temperatura. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni di deterioramento.

ELIMINAZIONE DEL MATERIALE USATO

Dopo l'utilizzazione **PATHOGENIC SYSTEM** ed il materiale venuto a contatto con il campione devono essere decontaminati e smaltiti in accordo con le tecniche in uso in laboratorio per la decontaminazione e lo smaltimento di materiale potenzialmente infetto.

PRESENTAZIONE

Prodotto	Codice	Confezione
PATHOGENIC SYSTEM	71679	20 tests

TABELLA DEI SIMBOLI

 Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>	 Non riutilizzare	 Fabbricante	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Limiti di temperatura
 Numero di catalogo	 Fragile, maneggiare con cura	 Utilizzare entro	 Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	 Codice del lotto



System for the detection and presumptive identification of pathogenic microorganisms from pharyngeal, cutaneous, auricular and ophthalmic swabs, expectorate and other clinical specimens

DESCRIPTION

PATHOGENIC SYSTEM is a 18 wells system containing desiccated biochemical substrata for the detection and presumptive identification of pathogenic microorganisms and dermatophytes from pharyngeal, cutaneous, auricular and ophthalmic swabs, expectorate, exudate from abscess and injury, and other clinical specimens.

The system is directly inoculated with the suspension of the clinical specimen and incubated at 36 ± 1 °C for 18-24 hours.

The tests for the detection and identification of microorganisms present in the specimen are interpreted by evaluating the color change in the wells and performing immunologic and microscopic confirmation tests.

CONTENT OF THE PACKAGE

The package contains:

20 Systems PATHOGENIC SYSTEM	1 vial containing 20 lyophilized pellet COAGULASE TEST
20 Physiological Solution vials (7.0 mL/vial)	1 TEST RESULTS FORM
1 cartridge containing 20 discs PYR Disc	1 Instruction sheet
1 PYR Reagent (5 mL)	

NECESSARY ITEMS NOT CONTAINED IN THE PACKAGE

STREPTO A CARD (ref.96418)	OXIDASE TEST DISCS (ref.88004)
ENTEROSYSTEM 18R REAGENT (cod.80252) (Vasellin oil, Indole test reagent; VP test reagents)	TRYPTIC SOY BROTH (ref.21104) or BRAIN HEART INFUSION (ref.20104)
	Sundry material for microbiological laboratory

CONFIGURATION

The system has the configuration indicated in table no.1.

Table no.1

Well	PRESUMPTIVE IDENTIFICATION of Group A Streptococcus
1-PYR *	Pyroglutamic-β-naphthylamide test
2-SGA *	Immunochromatographic test for confirmation <i>Streptococcus pyogenes</i> (Group A)
Well	PRESUMPTIVE IDENTIFICATION of Staphylococcus aureus
3-STA*	<i>Staphylococcus aureus</i>
4-COA*	Coagulase test for confirmation of <i>Staphylococcus aureus</i>
Well	PRESUMPTIVE IDENTIFICATION of Haemophilus spp.
5-HAE	<i>Haemophilus spp.</i>
6-X+V	Cultural medium for confirmation of <i>Haemophilus spp.</i>
Well	PRESUMPTIVE IDENTIFICATION of Escherichia coli
7-ESC	<i>Escherichia coli</i>
8-IND *	Indole test for confirmation of <i>Escherichia coli</i>
Well	PRESUMPTIVE IDENTIFICATION of Proteus spp. / Providencia spp.
9-PRO	<i>Proteus spp / Providencia spp</i>
10- <input type="checkbox"/> UR <input type="checkbox"/>	Urea test for confirmation of <i>Proteus spp. / Providencia spp.</i>
Well	PRESUMPTIVE IDENTIFICATION of Pseudomonas spp
11-PSE	<i>Pseudomonas spp</i>
12-OX *	Cytochrome-oxidase test for confirmation of <i>Pseudomonas spp.</i>
Well	PRESUMPTIVE IDENTIFICATION of Group KES microorganisms
13-KES	Group KES (<i>Klebsiella spp, Enterobacter spp, Serratia spp</i>)
14-VP*	Voges Proskauer test for confirmation of Group KES microorganisms
Well	PRESUMPTIVE IDENTIFICATION of Enterococcus faecalis
15-STR	<i>Enterococcus faecalis</i>
16-SB	Cultural medium for confirmation of <i>Enterococcus faecalis</i>
Well	PRESUMPTIVE IDENTIFICATION of Candida spp.
17-CAN	<i>Candida spp.</i>
Well	PRESUMPTIVE IDENTIFICATION of DERMATOPHYTES
18-DTM	Dermatophytes

* : After incubation, add the indicated reagent to perform the test

• : Performe immunochromatographic test

: Add Vaseline Oil

PRINCIPLE OF THE METHOD

PATHOGENIC SYSTEM allows detection and identification of microorganisms frequently isolated from pharyngeal, auricular and ophthalmic swabs, expectorate, exudate from abscess and injury, and other clinical specimens, such as: *Streptococcus pyogenes* (Group A), *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus spp./Providencia spp.*, *Pseudomonas spp.*, KES group microorganisms, *Enterococcus faecalis*, *Candida spp.* and dermatophytes of the genus *Microsporum spp.*, *Trichophyton spp.*, *Epidermophyton spp.*

- The presence of *Streptococcus pyogenes* is detected by the colorless to pink color change of the well **1-PYR** subsequent to addition of PYR reagent¹ and confirmed through the immunochromatographic test **STREPTO A CARD**² (ref. 96418) carried out from microbial culture of well **2-SGA**.
- The presence of *Staphylococcus aureus* is detected by the red to yellow-orange color change of well **3-STA** and confirmed with the clot presence in the well **4-COA** (Positive Coagulase test).
Strains of *Enterococcus spp.* can cause the red to yellow color change of well **3-STA** without clot presence (Negative Coagulase test).
- The presence of *Haemophilus spp.* is detected by the yellow-orange to red color change of well **5-HAE**⁴ and confirmed through isolation on selective medium (Chocolate Bacitracin Agar, ref. 11023) and biochemical tests from the well **6-X+V**.
- The presence of *Escherichia coli* is detected by the grey-red to blue color change of well **7-ESC** and by the formation of a pink-red ring subsequent to the addition of Kovac's Reagent in the well **8-IND**⁴.
- The presence of *Proteus spp./Providencia spp.* is detected by the yellow to brown-black color change of well **9-PRO**⁴ and confirmed with the yellow to red-fuchsia color change of the well **10-UR**.
- The presence of *Pseudomonas spp.* is detected by the yellow to turbid green color change of well **11-PSE** and confirmed through biochemical test with **OXIDASE TEST DISCS** (ref. 88004) carried out from microbial culture of well **12-OX**⁴.
- The presence of KES group microorganisms (*Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*) is detected by the purple to yellow color change of well **13-KES** and by the Voges Proskauer test performed from the well **14-VP**.
The identification of various microorganisms has to be confirmed through isolation on selective media for enterobacteria and biochemical tests⁴.
- The presence of *Enterococcus faecalis* is detected by the yellow to black color change of well **15-STR** and confirmed with the colorless to red color change of the well **16-SB**.
- The presence of *Candida spp.* is detected by the green to yellow color change and by the formation of a sediment in the well **17-CAN**⁵. Watch for the presence of chlamydospores and mycelial hyphae at the microscope.
- The presence of dermatophytes is detected by the yellow to red color change of the well **18-DTM** after the incubation of the system at 36 ± 1 °C for 72 hours. Watch for the presence of spores and mycelial hyphae at the microscope.

COMPOSITION

Table no.2

Well	Content
1- PYR	Culture medium to detect the presence of the enzyme L-pyroglutamyl-aminopeptidase (PYR) of <i>Streptococcus</i> β-hemolytic of Group A
2- SGA	Culture medium to detect <i>Streptococcus</i> β-hemolytic of Group A
3- STA	Culture medium to detect the growth of <i>Staphylococcus aureus</i>
4- COA	Culture medium for coagulase test
5- HAE	Culture medium for selective isolation of <i>Haemophilus spp.</i>
6- H+V	Culture medium to detect the growth of <i>Haemophilus spp.</i>
7- ESC	Culture medium to detect the growth of <i>Escherichia coli</i>
8- IND	Culture medium for the performance of indole test
9- PRO	Culture medium to detect the growth of <i>Proteus spp./Providencia spp.</i>
10- UR	Culture medium for urea hydrolysis
11- PSE	Culture medium to detect the growth of <i>Pseudomonas spp.</i>
12- OX	Culture medium for cytochrome oxidase test
13- KES	Culture medium for the growth of Group KES (<i>Klebsiella spp.</i> , <i>Enterobacter spp.</i> , <i>Serratia spp.</i>) microorganisms
14- VP	Culture medium for Voges Proskauer test
15- STR	Culture medium for selective isolation of <i>Enterococcus faecalis</i>
16- SB	Culture medium for the growth of <i>Enterococcus faecalis</i>
17- CAN	Culture medium for the growth of <i>Candida spp.</i>
18-DTM	Culture medium for the growth of dermatophytes

Physiological Solution (g/L): Sodium chloride 0,9 g; Distilled water 1000.0 mL; pH 7.0 ± 0.2

COLLECTION AND STORAGE OF THE SAMPLE

The clinical materials to be tested from pharyngeal, cutaneous, auricular and ophthalmic swabs, expectorate and other clinical specimens have to be sent to the laboratory for the inoculation of **PATHOGENIC SYSTEM** immediately after the specimen collection. Avoid storage in the fridge even for short time as low temperatures may damage the vitality of some sensitive microorganisms altering the final result.

TEST PROCEDURE

PREPARATION OF THE CLINICAL SPECIMEN

- Subsequent to the collection of the clinical specimen, dip the swab into a tube of nutrient broth (ex. Tryptic Soy Broth ref. 21104, Brain Heart Infusion Broth ref. 20104, Nutrient Broth ref. 20103).
- Leave the swab immersed for 5 minutes.
- Incubate the tube in thermostat at 36 ± 1 °C for 2-4-6 hours.

Note: Inoculating the clinical specimen under examination on a blood agar culture medium is recommended

INOCULATION OF THE SYSTEM

1. Take a system from its pouch and leave it at room temperature.
2. Note name of the patient, date of beginning of the examination and type of clinical material.
3. Transfer 0.5 mL of culture broth of the clinical specimen into a vial of *Physiological Solution* contained in the kit .
4. Put a Pyr Disc, contained in the kit, into the well **1-PYR**.
5. Inoculate 0.2 mL (4 drops) of the Inoculum Solution into each well of **PATHOGENIC SYSTEM**.
6. Cover the well **10-UR** with two drops of VASELINE OIL (ref. 80252)
7. Cover the system with the lid provided and incubate at 36 ± 1 °C for 18-24 hours.
8. Extend the incubation to 72 hours for detection of dermatophytes.

INTERPRETATION OF RESULTS

Subsequently to the incubation:

1. Add 2 drops of PYR Reagent into the well **1-PYR**. Wait 5 minutes and watch for the formation of pink-red colouring of the disc.
2. Perform the rapid immunochromatografic test **STREPTO A CARD**, following the test procedure as in the pack insert (ref.96418), of the microbial culture in the well **2-SGA** to confirm the presence of *Streptococco* β -hemolytic of Group A.
3. Watch for the color change in the well **3-STA**, and interpret the result using the table no.3. In the case of positive reaction (well color yellow -orange) put a lyophilized pellet Coagulase Test, contained into the kit, in the well **4-COA**. Incubate the system for 4-6 hours and watch for the clot formation in the well **4-COA** (coagulase test positive) to confirm the presence of *Staphylococcus aureus*.
4. Watch for the color change in the well **5-HAE**, and interpret the result using the table no.3.
5. Perform the microbial isolation test: take a loop of culture broth from well **6-X+V** and inoculate it on the surface of a selective plate (Chocolate Bacitracin Agar, ref. 11023). Incubate the plate at 36 ± 1 °C in anaerobiosis, and carry out biochemical tests for the cultivated colonies to confirm the presence of *Haemophilus spp.*
6. Watch for the color change in the well **7-ESC**, and interpret the result using the table no.3.
7. Perform indole test adding 2 or 3 drops of Kovac's Reagent (ref. 80270) into the well **8-IND**. The positive reaction is given by the formation within 1 minute of a pink-red ring in the well **8-IND**.
8. Watch for the color change in the well **9-PRO**, **10-UR** and interpret the result using the table no.3.
9. Watch for the color change in the well **11-PSE**, and interpret the result using the table no.3.
10. Perform the oxidase test by adding a disc of **OXIDASE TEST DISCS** (ref.88004) into the well **12-OX** and watch for the formation of a blue-purple coloring within 2 minutes to confirm the presence of *Pseudomonas spp.*
11. Watch for the color change in the well **13-KES**, and interpret the result using the table no.3.
12. Perform the Voges Proskauer Test adding 2 drops of alpha-naphtol and 1 drop of NaOH 40% (ref. 88035) to the well **14-VP** and wait for 15-20 minutes for the appearance of pink-red colour.
13. Watch for the color change of the well **15-STR** and **16-SB**, and interpret the result using the table no.3.
14. Watch for the color change of the well **17-CAN**, and interpret the result using the table no.3. Take a drop from the well **17-CAN**, deposit it on a glass slide, cover it, and watch for chlamydospores and mycelial hyphae at the microscope (40x) to confirm the presence of *Candida spp.*
15. Watch for the color change of the well **18-DTM** and interpret the result using the table no.3 and watch for spores and mycelial hyphae at the microscope (40x) to confirm the presence of dermatophytes.
16. Note the results on the TEST RESULTS FORM (copy as many forms as necessary)

Table no.3

Well	Presumptive identification of <i>Streptococcus</i> Group A	Well color	
		Positive reaction	Negative reaction
1-PYR	Pyroglutamic- β -naphthylamide test	pink	colorless
2-SGA	Immunochromathographic test to confirm <i>Streptococcus pyogenes</i> (Group A)	two red lines	one red lines
Well	Presumptive identification of <i>Staphylococcus aureus</i>	Well color	
		Positive reaction	Negative reaction
3-STA	<i>Staphylococcus aureus</i>	yellow-orange	red
4-COA	Coagulase test to confirm <i>Staphylococcus aureus</i>	clot presence	clot absence
Well	Presumptive identification of <i>Haemophylus spp.</i>	Well color	
		Positive reaction	Negative reaction
5-HAE	<i>Haemophylus spp.</i>	red	yellow-orange
6-X+V	Cultural medium to confirm <i>Haemophylus spp.</i>		
Well	Presumptive identification of <i>Escherichia coli</i>	Well color	
		Positive reaction	Negative reaction
7-ESC	<i>Escherichia coli</i>	blue	grey-red
8-IND	Indole test for confirming <i>Escherichia coli</i>	pink-red	yellow
Well	Presumptive identification of <i>Proteus spp.</i> / <i>Providencia spp.</i>	Well color	
		Positive reaction	Negative reaction
9-PRO	<i>Proteus spp.</i> / <i>Providencia spp.</i>	brown-black	yellow
10-UR	Urea test to confirm <i>Proteus spp.</i> / <i>Providencia spp.</i>	yellow	red-fuchsia
Well	Presumptive identification of <i>Pseudomonas spp.</i>	Well color	
		Positive reaction	Negative reaction
11-PSE	<i>Pseudomonas spp.</i>	turbid green	yellow
12-OX	Cytochrome-oxidase test for confirming <i>Pseudomonas spp.</i>	blue	colorless
Well	Presumptive identification of microorganisms group KES (<i>Klebsiella spp.</i> , <i>Enterobacter spp.</i> , <i>Serratia spp.</i>)	Well color	
		Positive reaction	Negative reaction
13-KES	Group KES (<i>Klebsiella spp.</i> , <i>Enterobacter spp.</i> , <i>Serratia spp.</i>)	yellow	violet
14-VP	Voges Proskauer test to confirm Group KES microorganisms	pink-red	colorless
Well	Presumptive identification of <i>Enterococcus faecalis</i>	Well color	
		Positive reaction	Negative reaction
15-STR	<i>Enterococcus faecalis</i>	brown-black	colorless
16-SB	Cultural medium to confirm <i>Enterococcus faecalis</i>	red	colorless
Well	Presumptive identification of <i>Candida spp.</i>	Well color	
		Positive reaction	Negative reaction
17-CAN	<i>Candida spp.</i>	yellow with sediment	green
	Microscopical examination (40x)	presence of chlamydo spores and mycelial hyphae	absence of chlamydo spores and mycelial hyphae
Well	Presumptive identification of DERMATHOPHYTES	Well color	
		Positive reaction	Negative reaction
18-DTM	Dermatophytes	red	yellow
	Microscopical examination (40x)	presence of spores and mycelial hyphae	absence of spores and mycelial hyphae

Note:

It is possible to carry out the susceptibility test of the various isolated microorganisms, by taking a drop of culture broth from the well and proceeding according to the laboratory methods.

Do not use the wells where supplement reagents are added, like 1-PYR, 8-IND, 10-UR, 12-OX and 14-VP for the susceptibility test.

QUALITY CONTROL

Every batch of **PATHOGENIC SYSTEM** is subjected to the quality control using the following reference microorganisms:

<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 19615	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 23355
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	ATCC 7901	<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 8100
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 19433
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 25933	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	ATCC 9533

FACTORS THAT MAY INVALIDATE THE RESULTS

Poor standardization of the inoculum; clinical material unsuitable; use of expired systems and/or reagents; non compliance with temperatures and times of incubation.

CAUTIONS

The product, **PATHOGENIC SYSTEM** is not classified as hazardous under current legislation, however refer to the safety datasheet for a correct use. **PATHOGENIC SYSTEM** is a disposable device to be used only for diagnostic use *in vitro*. It must be used in the laboratory by properly trained personnel, using approved aseptic and safety methods for handling pathogenic agents.

STORAGE

Store at 2-8 °C in the original packaging. Keep away from sources of heat and avoid excessive changes in temperature. In such conditions, the product will remain valid until the expiry date indicated on the label. Do not use beyond that date. Eliminate without using if there are signs of deterioration.

DISPOSAL OF USED MATERIAL

After use, **PATHOGENIC SYSTEM** and material that has come into contact with the sample must be decontaminated and disposed of in accordance with the techniques used in the laboratory for decontamination and disposal of potentially infected material.

PRESENTATION

Product	Ref.	Package
PATHOGENIC SYSTEM	71679	20 tests

TABLE OF SYMBOLS

IVD <i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device	 Do not reuse	 Manufacturer	 Contains sufficient for <n> tests	 Temperature limitation
REF Catalogue number	 Fragile, handle with care	 Use by	 Caution, consult accompanying documents	LOT Batch code



Rev.2/18.07.2008

BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

1. Ellner PD, Williams DA, Hosmer MA, Cohenford MA. Preliminary evaluation of a rapid colorimetric method for the presumptive identification of group A streptococci and enterococci. J. Clin. Microbiol. **22**, 880-881, 1985.
2. Appleton RS, Victoria BE, Tamer D and Ayouf EM. 1985. J.Lab. Clin. Med. **105**:114-119.
3. Philips W, Kloos W. (1981). J.Clin.Microbiol; **14**: 671.
4. Murray, Baron, Pfaller, Tenev. Tenover. Manual of Clinical Microbiology 7th Edition (1999). American Society Microbiology.
5. *Davise H. Larone. Medically important fungi. A Guide to Identification. 2th Edition (1987). Elsevier.*



Bacteriology Products



LIOFILCHEM S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto D.A. (TE) - ITALY

Tel +390858930745 Fax +390858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net