

We take **Care**

of our customers

Výrobky CARE jsou určeny pro zásobování našich zákazníků na celém světě vysoce kvalitními spotřebními materiály, příslušenstvím a speciálními soupravami.

Řada výrobků CARE je speciálně optimalizovaná a certifikovaná pro použití se všemi systémy Bruker Daltonics.

www.care-bdal.de / www.care-bdal.com

Informace o výrobku

MALDI Sepsityper Kit

Souprava pro identifikaci mikroorganismů v pozitivních krevních kulturách s pomocí přístroje MALDI Biotyper. Doporučená pro láhve na krevní kultury s aktivním uhlím. Pouze pro výzkumné účely. Nelze využívat pro diagnostické postupy.

Popis výrobku

V klinické praxi se pacientům s podezřením na sepsi odebírá krev (přibližně 10 ml) do kultivačních lahví pro krevní kultury a kultivuje se v automatech, určených k tomuto účelu. V případě výskytu bakterií, kvasinek nebo plísní (po hodinách až dnech) přístroj signalizuje, že zaznamenal mikrobiální růst.

MALDI Sepsityper Kit umožňuje s pomocí přístroje MALDI Biotyper identifikaci nejpravděpodobnějších druhů příslušných mikroorganismů už po 30 minutách. Na základě přesné znalosti přítomných mikroorganismů lze ve většině případů zahájit rychlou a specifickou analýzu antibiotického chování.

Viz rovněž Omezení metody na straně 3.

Souprava je určena výhradně pro výzkumné účely, nikoliv pro diagnostické postupy.

Součásti soupravy

Materiály dodané v soupravě	Zkratka	Poznámky
Lyzační pufr	LB	Skladujte při pokojové teplotě a ve tmě
Přečišťovací pufr	WB	
Reakční zkumavky – MALDI kvalita		
Štítky		
Stručný návod a podrobné informace o výrobku		

Další potřebný materiál, který není součástí soupravy:

Popis	Dodavatel	Objednací číslo
<u>Obecně:</u>		
Standardní laboratorní vybavení, např. stojan na reakční zkumavky, pipety různých velikostí (1 µl – 1000 µl), pipetovací špičky Eppendorf různých velikostí: pipetovací špičky 2-200 µl (obj. č. Eppendorf: 0030 000.870), pipetovací špičky 50-1000 µl (obj. č. Eppendorf: 0030 000.919), laboratorní odstředivka.		
<u>Doporučené vybavení pro odběr krevní kultury:</u>		
Zkumavka na odběr krve BD Vacutainer® (8,5 ml)	BD ¹⁾	367953
Jehla na odběr krve BD Vacutainer® Eclipse	BD ¹⁾	36607
Držáky na jehly BD Vacutainer®	BD ¹⁾	364815
Jehly, např. BD Microlance 3™, na jedno použití	BD ¹⁾	301300
Injekční stříkačka, např. BD Discardit™ II, dvoudílná	BD ¹⁾	309110
<u>Doporučené vybavení pro extrakci etanolem/kyselinou mravenčí:</u>		
Čistý etanol, ≥99,8% (GC) (nedenaturovaný)	Sigma-Aldrich	24102
Kyselina mravenčí, nejčistší pro analytické účely	Sigma-Aldrich	06440
Acetonitril (AN) ≥99,9%, LC-MS CHROMASOLV®	Sigma-Aldrich	34967
Kyselina trifluoroctová (TFA) >98,5% (ReagentPlus®)	Sigma-Aldrich	T62200
Deionizovaná voda, např. voda pro HPLC	Sigma-Aldrich	95304
<u>Pro přípravu MALDI vzorků:</u>		
HCCA _{portioned}	Bruker Daltonik	255344
Bruker Bacterial Test Standard	Bruker Daltonik	255343

¹⁾ Becton, Dickinson and Company

Je nutné používat pouze chemikálie s nejvyšším stupněm čistoty (určené pro MALDI nebo HPLC).

Skladování a doba skladovatelnosti

Všechny součásti soupravy se mají skladovat při pokojové teplotě a ve tmě.

Je nutné s nimi zacházet opatrně, aby nedošlo ke kontaminaci.

Při skladování v neotevřeném stavu a při výše uvedených skladovacích podmínkách je výrobek stabilní až do data expirace, uvedeného na štítku.

◆ Pamatujte, prosím:

Po prvním otevření je nutné výrobek spotřebovat do třech měsíců.

Rizika a bezpečnostní informace

Práce se škodlivými chemikáliemi

Neplatí klasifikace podle Směrnice 67/548/EEC a 1999/45/EC. Výrobek nemusí být označený díky výpočetnímu postupu „Obecných klasifikačních pokynů pro přípravky v EU“ v platném znění. Každý materiál může představovat neznámé nebezpečí a je nutné s ním zacházet s opatrností. Při práci s chemikáliemi dodržujte obecné bezpečnostní pokyny.

Kromě součástí soupravy doporučujeme v tomto Popisu výrobku použití dalších chemikálií. Pozorně si prostudujte materiálové bezpečnostní listy, dodané vašim dodavatelem, a řiďte se jimi. Pozorně si přečtěte chemické a bezpečnostní věty a dodržujte je.

Je nutné dodržovat všechny státní nebo místní bezpečnostní předpisy. Při práci s chemikáliemi dodržujte obecné bezpečnostní předpisy. Vždy používejte laboratorní plášť, ochranné brýle a ochranné rukavice. Pokud to dodavatel doporučuje, pracujte v digestoři.

Biologická nebezpečí

Systémy MALDI Sepsityper a MALDI Biotyper pracují s potenciálně nebezpečným biologickým materiálem. Všechny osoby pracující s těmito systémy odpovídají za přijetí a dodržování všech potřebných hygienických a bezpečnostních opatření. Všechny vzorky a kultury pacientů je nutné považovat za potenciálně infekční. Se systémy MALDI Sepsityper a MALDI Biotyper mohou pracovat jen kvalifikovaní laboratorní pracovníci, kteří odpovídají za přijetí a dodržování všech potřebných bezpečnostních opatření pro práci s potenciálně infekčním materiálem. Je velmi důležité vždy používat vhodné prostředky osobní ochrany. Tím se miní laboratorní plášť a ochranné brýle. Vždy se ujistěte, že Vaše prostředky osobní ochrany jsou v dobrém stavu. Při pracovních postupech s MALDI Biotyper se smíchávají některé reagenty s mikroorganismy a tedy s potenciálně nebezpečným biologickým materiálem. Kromě toho některá používaná příslušenství a spotřební materiál přicházejí do styku s mikroorganismy. Obsluha přístroje odpovídá za opatrné zacházení s příslušnými látkami, příslušenstvím a spotřebním materiálem, jejich správnou likvidaci a dekontaminaci v souladu se státními nebo místními bezpečnostními předpisy.

◆ **Důležité: Omezení metody**

Není možná identifikace směsi kultur. V takovýchto případech bývá obvykle identifikován jen jeden organismus nebo vůbec žádný.

Aby bylo vyloučeno přehlédnutí některé kultury ve směsi, je nutné provádět subkultivaci na agarové destičce.

Vzhledem k povaze pozitivně označených krevních kultur (s velkým množstvím krvinek v různých poměrech k bakteriálním buňkám) nelze zaručit, že budou fungovat všechny přípravy vzorku. Rozsáhlé studie ukazují, že průměrná úspěšnost je kolem 80%.

Tuto úspěšnost může významně zvýšit alternativní interpretace výsledků, která se odlišuje od standardní interpretace prahových hodnot MALDI Biotyperu. Takovéto alternativní interpretace mohou provádět jen zkušení mikrobiologové, kteří mají zkušenosti s interpretací výsledků z MALDI Biotyperu.

Spolehlivost a úspěšnost metod přípravy vzorků s pomocí soupravy MALDI Sepsityper Kit lze dále zvýšit speciálním aplikačním školením pro práci s MALDI Sepsityper.

Doporučený postu přípravy vzorků

Odběr krevní kultury

1. Dezinfikujte septum lahve na krevní kultury (např. pomocí 70% etanolu).
2. Odeberte krevní kulturu, např. pomocí zkumavky Vacutainer® a systému BD (jehly pro odběr krve BD Vacutainer® Elipse a držáku jehly BD Vacutainer®). Díky podtlaku ve zkumavce Vacutainer® se odebere 7 až 8 ml krve.

Příprava vzorku

◆ **Důležité:** Všechny modifikace lahví na krevní kultury bioMérieux (BMX) s uhlím jsou psány kurzívou a červeně.

1. Pro identifikaci pomocí MALDI odeberte ze zkumavky Vacutainer® 1 ml krevní kultury a přeneste ji do reakční zkumavky (s MALDI kvalitou).
2. Přidejte 200 µl **lyžačního pufru** a asi 10 sekund protřepávejte.

◆ **Pamatujte, prosím:** Lyžační pufr se může při nižších teplotách odseparovat. Tento proces je vratný a lyžační pufr se po úpravě stane opět čirým.



Lyžační pufr je klasifikovaný jako nebezpečná chemikálie (VAROVÁNÍ: H: 315, 319; P: 264, 280, 302+352, 305+351+338, 321, 332+313)

- *Nalijte 800 µl této směsi na filtr Sigma (Sigma Prep Spin Column, SC1000-1KT).*
 - *Odstředujte 2 minuty při 2 000 ot/min.*
 - *Vyhodte filtr.*
 - *Odstředujte filtrát 2 minuty při 13 000 ot/min.*
 - *Odstraňte pomocí pipety supernatant a zlikvidujte jej.*
3. Odstředujte 1 minutu při 13 000 ot/min (*tento krok už není pro přípravu BMX zapotřebí*).
 4. Odstraňte pomocí pipety supernatant a zlikvidujte jej.
 5. Důkladným pipetováním nahoru a dolů vytvořte s pomocí 1 ml **přečišťovacího pufru** z pelety suspenzi.
 6. Odstředujte 1 minutu při 13 000 ot/min.
 7. Odstraňte pomocí pipety supernatant a zlikvidujte jej.
 8. Přidejte 300 µl deionizované vody, znovu důkladně promíchejte a vytvořte suspenzi a přidejte 900 µl etanolu.




Etanol je klasifikovaný jako nebezpečná chemikálie (NEBEZPEČÍ: H: 225; p: 210).


9. Následně je nutné vzorek připravit pomocí standardního „extrakčního“ postupu přípravy vzorků firmy Bruker (extrakce etanolem / kyselinou mravenčí).

Extrakce etanolem / kyselinou mravenčí a příprava MALDI


Roztok matrice: Použijte Bruker HCCA_{portioned} (#255344) jak je popsáno výrobcem.

 *HCCA je klasifikovaná jako nebezpečná chemikálie (VAROVÁNÍ: H: 302, 312, 332, 315, 319, 335; P: 261, 264, 270, 271, 280, 301+312).*

1. Odstředujte suspenzi získanou v 8. kroku (Příprava vzorku) ve stolní odstředivce po dobu 2 minut při 13 000 ot/min a slijte supernatant.
2. Odstředujte další 2 minuty a pomocí pipety odstraňte z pelety zbytkový etanol.
3. Nechejte etanolovou peletu sušit po dobu několika minut při pokojové teplotě.
4. Přidejte k peletě obvykle 20 μl (mezi 5 a 50 μl ¹⁾ 70% kyseliny mravenčí a důkladně promíchejte pipetováním.

 *Kyselina mravenčí je klasifikovaná jako nebezpečná chemikálie (NEBEZPEČÍ: H: 314; P: 280, 305+351+338, 310).*

5. Přidejte do zkumavky stejný objem (identický s objemem zvoleným ve 4. kroku) 100% acetonitrilu a důkladně promíchejte.

 *Acetonitril je klasifikovaný jako nebezpečná chemikálie (NEBEZPEČÍ: H:225, 319, 302, 312, 332; P: 210, 280, 305+351+338).*

¹⁾ Objem kyseliny mravenčí a acetonitrilu přidaný k peletě musí být úměrný velikosti etanolové pelety. V případě velmi malých pelet lze objem extrakčních rozpouštědel snížit až na 2 μl .

6. Odstředujte ve stolní odstředivce po dobu 2 minut při maximálních otáčkách a přeneste pipetou 1 μl supernatantu na spot na nosiči vzorků pro MALDI.
7. Jakmile vzorek na spotu uschne, překryjte ho 1 μl roztoku matrice HCCA a nechejte před analýzou uschnout.



Informace pro objednávání

Výrobek	Velikost	Objednací číslo
MALDI Sepsityper Kir 50	50 vzorků	270170
Bruker Bacterial Test Standard		255343
HCCA _{portioned}		255344
Poukaz na školení MALDI Sepsityper		272588

Podpora

Email: care@bdal.de

Tel.: +49 (421) 2205-0

Web: www.care-bdal.de

Pouze pro výzkumné účely. Nelze využívat pro diagnostické postupy.

Verze: PI_270170_MALDI Sepsityper_V1.doc Září 2010

Copyright: 2010 Bruker Daltonik GmbH

Popisy a specifikace nahrazují všechny předcházející informace a podléhají změnám bez upozornění.