



DIESE Diagnostica Senese SpA

Via delle Rose 10, 53035 Monteriggioni SI

Tel. ++39/0577/ 587111 - Fax ++39/0577/318690

ISTRUZIONI PER L'USO**PAR TEST****REF** 025**(Italiano)****1. UTILIZZAZIONE****TEST COLORIMETRICO PER L'INDIVIDUAZIONE DEL POTERE ANTIBATTERICO RESIDUO NELLE URINE****2. INTRODUZIONE**

Quando si effettua il conteggio dei germi presenti in campioni di urine, la presenza di sostanze antibatteriche determina risultati falsamente negativi nel 20-27% dei casi (1,2). Il test può essere effettuato utilizzando anche altri liquidi quali acque potabili, latte, omogenati di carne etc.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Spore di *Bacillus Subtilis* ATCC 6633, scelte per la loro sensibilità a tutti gli antibiotici, vengono essiccate in pozzetti contenenti il terreno ed un indicatore di crescita. Il campione in esame ripristina il terreno. Dopo incubazione a 37°C con i campioni negativi si ha produzione di un pigmento rosso, mentre con quelli positivi il terreno rimane perfettamente giallo.

4. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

- I reagenti sono sufficienti per 96 determinazioni
- Portare i reagenti a temperatura ambiente prima dell'uso.

MT PLATE PIASTRE CON SPORE 2 piastre con 6 x 8 pozzetti.**Contenuto:** Ogni pozzetto contiene in forma essiccata spore di *B. subtilis*, terreno eugonico ed indicatore di crescita.**ALTRI MATERIALI**

- 2 fogli di chiusura
- 1 busta sigillabile da usare come camera di incubazione
- 1 schema della piastra.

5. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI**I reagenti devono essere conservati a 2/8°C.****La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.**

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo apertura e/o preparazione:

REAGENTE CONDIZIONI

PLATE 1 mese

6. PRECAUZIONI**SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO**

Qualunque materiale di origine biologica deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

Smaltimento dei residui: i campioni di urine e i reagenti usati devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di legge vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni e durante la prova. Lavare accuratamente le mani una volta terminato il test.
2. Se un reagente viene a contatto con la pelle o con gli occhi, lavare abbondantemente con acqua. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere pulita, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è

presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per pulire eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

1. **Prima dell'uso, portare tutti i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente (18-30°C).** Riporre i reagenti alla temperatura di conservazione raccomandata immediatamente dopo l'uso.
2. Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza. Evitare l'inquinamento microbico dei reagenti poiché ciò riduce la validità del prodotto e può dare luogo a risultati errati.
3. Non modificare la Procedura, né sostituire i reagenti con quelli di altri produttori o da altri lotti, a meno che non sia specificamente riportato che il reagente è intercambiabile fra lotti.
4. Non utilizzare campioni di urine indiluite stabilizzate dalla presenza di conservanti quali acido borico o altro.
5. Non prolungare l'incubazione oltre le 24 ore.

7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE

Urina raccolta in contenitori privi di conservante. Il campione deve essere analizzato entro 8 ore dal prelievo. Per conservazioni più lunghe congelare a -20°C, può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.

8. PROCEDIMENTO

Tagliare con le forbici il numero di pozzetti che si prevede di utilizzare. Distribuire una goccia (50 µl) di campione in ciascun pozzetto e chiudere con il foglio adesivo premendo leggermente sui bordi del device. Incubare a 37°C nell'apposita busta sigillabile o in camera umida per almeno 18 ore. Leggere il risultato osservando se si è sviluppata pigmentazione.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Distribuire almeno in un pozzetto, 50 µl di fisiologica o acqua sterile. Si deve produrre sviluppo batterico e viraggio di colore al rosso.

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

PAR POSITIVO

Soluzione del pozzetto color giallo chiaro.

PAR NEGATIVO

Presenza di diffusa colorazione color rosso vinaccia o sviluppo di varie colonie colorate adese alla plastica.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Il test può risultare falsamente negativo in presenza di campioni di pazienti trattati con antibatterici ma infettati da ceppi resistenti.

Il test risulta falsamente positivo con urine contenenti batteriostatici quali il borato.

12. SENSIBILITA' ANALITICA

La sensibilità del test è dipendente dalla quantità di campione in analisi. Per avere il TEST ALLA MASSIMA SENSIBILITA' si utilizzano i campioni in esame senza alcuna diluizione.

Per avere SENSIBILITA' INFERIORE aggiungere ai pozzetti, per esempio, 25 µl di acqua sterile e 25 µl di campione. Per i campioni raccolti in presenza di stabilizzanti, per esempio urine in provette Becton Dickinson cod. 4948, aggiungere ai pozzetti 90 µl di acqua sterile e 10 µl di campione in esame.

13. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA

In una sperimentazione esterna in cui si sono impiegate 537 urine indiluite raccolte senza uso di conservanti, in confronto ad un test su piastre di agar germi (E. coli, S. aureus), si è ottenuto una concordanza del 90,1% con 23 falsi positivi e 26 falsi negativi.

14. BIBLIOGRAFIA

1. Rigoli E.: Determinazione del potere antibatterico residuo (Par-test) nel campione biologico: Microbiologica Medica 1980, 1, p. 3.
2. Crotti D. et al. Quad. Sclavo Diagn. 1982, 18, n. 3, pp. 327-332.



DIESSE Diagnostica Senese SpA

Via delle Rose 10, 53035 Monteriggioni SI

Tel. ++39/0577/ 587111 - Fax ++39/0577/318690

INSTRUCTIONS FOR USE**PAR TEST****REF 025****(English)****1. INTENDED USE****COLORIMETRIC TEST FOR THE DETECTION OF RESIDUAL ANTIBACTERIAL POWER IN URINE.****2. INTRODUCTION**

When the germ count is performed on urine samples, the presence of antibacterial substances in the sample can determine false negative results in 20-27% of cases (1,2).

The test can also be performed using other liquids such as drinking water, milk or meat homogenate.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

Bacillus Subtilis ATCC 6633 spores, chosen for their sensitivity to all antibiotics, are dried in wells containing medium and growth indicator.

The test urine dissolves the medium. After incubation at 37°C the negative samples produce a red pigmentation, while in the positive ones the medium remains completely yellow.

4. KIT CONTENTS AND REAGENT PREPARATION

- Reagents are sufficient for 96 determinations.
- Bring reagents to room temperature before use.

MT PLATE PLATES CONTAINING SPORES 2 plates with 6 x 8 wells**Contents:** Each plate contains B. subtilis spores, eugon medium and growth indicator, in freeze-dried form.**OTHER MATERIALS**

- 2 adhesive films
- 1 sealable envelope for use as incubation chamber
- 1 diagram of the wells.

5. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C.

The expiry date is printed on each component and on the box label.

Reagents have a limited stability after opening and/or preparation

REAGENT	CONDITIONS
PLATE	1 month

6. PRECAUTIONS**FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY. STORE AT 2-8°C**

All materials of biological origin must be handled as potentially infectious. All precautions normally adopted in laboratory practice should be followed when handling reagents and samples.

Waste disposal: urine samples and reagents once used must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens and performing the assay. Wash hands thoroughly when finished.
2. If a reagent comes in contact with the skin or eyes, wash thoroughly with water. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1.0% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should

not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical precautions

1. **Allow all reagents and samples to come to room temperature (18-30°C) before use.** Immediately after use return reagents to the recommended storage temperature.
2. Do not use the reagents beyond the stated expiry date. Microbiological contamination of reagents must be avoided as this may reduce the life of the product and cause erroneous results.
3. Do not modify the Test Procedure or substitute reagents from other manufacturers or other lots unless the reagent is stipulated as interchangeable.
4. Do not use undiluted urine samples which have been stabilized by the presence of preservatives such as boric acid or other substances.
5. Do not prolong the incubation over 24 hours.

7. TYPE AND STORAGE OF SAMPLE

Urine collected in containers without preservatives. The sample must be tested within 8 hours of collection. For longer storage, freeze at -20°C, and can be thawed a maximum of 3 times. Do not keep the samples in auto-defrosting freezers.

8. PROCEDURE

Use scissors to cut the number of wells required for the test. Dispense one drop (50 µl) of sample in each well and close with the adhesive film pressing lightly on the sides of the device. Incubate for at least 18 hours at 37°C in the sealed envelope or in a humidity chamber. Read the results and observe whether pigmentation has developed.

9. TEST VALIDATION

Distribute 50 µl of saline or sterile water in at least 1 well. Bacterial development must be found, with a colour change to red.

10. INTERPRETATION OF THE TEST

POSITIVE PAR

The wells contains a clear yellow solution.

NEGATIVE PAR

Diffuse dark red colouring or development of several coloured colonies adhered to the plastic.

11. TEST LIMITATIONS

The test may give a false negative result in the presence of samples of patients treated with antibiotics but infected by resistant strains.

The test gives false positive results in case of urine containing bacteriostatics as borate.

12. ANALYTICAL SENSITIVITY

The test sensitivity depends on the amount of sample. Use samples without dilution to obtain the MAXIMUM TEST SENSITIVITY. For LOWER SENSITIVITY, 25 µl of sterile water and 25 µl of sample may be added to each well.

When samples are collected in the presence of stabilizing agents (e.g. using the Becton Dickinson tubes cod. 4948) add to the wells 90 µl of sterile water and 10 µl of test sample.

13. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

In an external experimentation in which 537 undiluted urine samples collected without the use of preservatives were tested in comparison with a test on plates of agar germs (E. coli, S. aureus), a correlation of 90.1% was found, with 23 false positive and 26 false negative results.

14. REFERENCES

1. Rigoli E.: Determinazione del potere antibatterico residuo (Par-test) nel campione biologico: Microbiologica Medica 1980, 1,p. 3.
2. Crotti D. et al. Quad. Sclavo Diagn. 1982, 18, n. 3, pp. 327-332.

	EN ES IT	Date of manufacture Fecha de fabricación Data di fabbricazione	FR GR PT	Date de fabrication Ημερομηνία Παραγωγής Data de fabrico
	EN ES IT	Use By Fecha de caducidad Utilizzare entro	FR GR PT	Utiliser jusqu'e Ημερομηνία λήξης Prazo de validade
	EN ES IT	Caution, consult accompanying documents Atención, ver instrucciones de uso Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	FR GR PT	Attention voir notice d'instructions Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα Atenção, consulte a documentação incluída
	EN ES IT	Manufacturer Fabricante Fabbricante	FR GR PT	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante
	EN ES IT	Contains sufficient for <n> tests Contenido suficiente para <n> ensayos Contenuto sufficiente per "n" saggi	FR GR PT	Contenu suffisant pour "n" tests Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	EN ES IT	Temperature limitation Límite de temperatura Limiti di temperatura	FR GR PT	Limites de température Περιορισμοί θερμοκρασίας Limites de temperatura
	EN ES IT	Consult Instructions for Use Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso	FR GR PT	Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Consulte as instruções de utilização
	EN ES IT	Biological risks Riesgo biológico Rischio biologico	FR GR PT	Risques biologiques Βιολογικοί κίνδυνοι Risco biológico
	EN ES IT	Catalogue number Número de catálogo Numero di catalogo	FR GR PT	Référence du catalogue Αριθμός καταλόγου Referência de catálogo
	EN ES IT	In Vitro Diagnostic Medical Device Producto sanitario para diagnóstico in vitro Dispositivo medico-diagnostico in vitro	FR GR PT	Dispositif médical de diagnostic in vitro In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	EN ES IT	Batch code Código de lote Codice del lotto	FR GR PT	Code du lot Αριθμός Παρτίδας Código do lote



Diesse Diagnostica Senese
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena) – Italy
Tel. 0577-587111