

Kat. č.: MLT00005

**Pro mikrobiologii**

Souprava ENTEROtest 16 je určena pro rutinní identifikaci významných druhů střevních bakterií z čeledi *Enterobacteriaceae*. Souprava umožňuje provést identifikaci šedesáti kmenů, pomocí šestnácti biochemických testů. Testy jsou umístěny v jamkách mikrotitrační destičky, vždy dvě řady po osmi jamkách. Identifikace je možné doplnit testy pro důkaz oxidázy,  $\beta$ -galaktosidázy,  $\beta$ -glukuronidázy a VP reakce, dodávanými ve formě diagnostických proužků. Tyto testy jsou dodávány zvlášť.

**Souprava ENTEROtest 16 obsahuje:**

- 10 mikrotitračních destiček (každá pro identifikaci 6 kmenů) se sušidlem
- Návod na použití s diferenciací tabulkou
- Barevná škála pro soupravu ENTEROtest 16
- 60 formulářů pro záznam výsledků
- 10 PE sáčků pro inkubaci
- Skladovací sáček (na uložení nespoteřované destičky), 1 ks
- Víčko

**Skladování, expirace:**

ENTEROtest 16 je třeba skladovat při teplotě (+2 až +8)°C. Doba expirace je vyznačena na každém balení.

**Doporučený pracovní postup pro ENTEROtest 16**

**Potřeby pro práci se soupravou ENTEROtest 16, které nejsou součástí soupravy:**

- Činidlo pro test INDOL (kat. č. MLT00020 – 630 stanovení)
- Činidlo pro test FENYLALANIN (kat. č. MLT00017 – 230 stanovení)
- Parafinový olej sterilizovaný (kat. č. MLT00042 - 150 stanovení)
- ONPtest (kat. č. MLT00038 – 50 stanovení)
- Petriho misky s krevním agarem
- Zkumavky (100 x 15) mm s 2,2 ml sterilního fyziologického roztoku
- Přístroj DENSILAMETER II (kat. č. INS00062)
- Vortex V1 (kat. č. 50001715)
- Křovkací pipeta na 0,1 ml, sterilní špičky
- Termostat 37°C
- Běžné laboratorní mikrobiologické vybavení (kličky, popisovače, kahan)

**Potřeby pro práci s doplňkovými testy, které nejsou součástí soupravy:**

- OXItest (kat. č. MLT00039 – 50 stanovení)
- Činidlo pro test OXIDÁZA (kat. č. MLT00022 - 250 stanovení)
- COLItest (kat. č. MLT00035 – 50 stanovení)
- Činidlo pro test INDOL (kat. č. MLT00020 – 120 stanovení)
- UV lampa (kat. č. 50001471)
- VPtest (kat. č. MLT00041 – 50 stanovení)
- Činidlo pro test ACETOIN (kat. č. MLT00016 - 90 stanovení)

**Potřebné identifikační pomůcky, které nejsou součástí soupravy:**

- Kódová kniha pro soupravu ENTEROtest 16 - umístěna na [www.erbalachema.com](http://www.erbalachema.com) (sekce Mikrobiologie)
- Identifikační program ErbaExpert

**Poznámka:** V případě vyhodnocování identifikace s pomocí Kódové knihy je pro tvorbu číselného kódu - profilu nezbytné znát výsledky testu ONPtest.

**Upozornění:**

- Souprava je určena pouze k profesionálnímu použití

**Dodržujte zásady pro práci s infekčním materiálem!**

**Izolace kultur:**

- Proveďte konvenční technikou na doporučených médiích.  
**Poznámka:** potvrzení příslušnosti ke střevním bakteriím proveďte testem na fermentaci glukózy (OFtest). Pro vyloučení druhů z rodu *Aeromonas*, *Plesiomonas* a *Vibrio* proveďte z krevního agaru oxidázový test (OXItest).

**Příprava inokula:**

- Z čisté 24 hod. kultury připravte ve sterilním fyziologickém roztoku suspenzi.
- Suspenzi důkladně homogenizujte. Zákal suspenze musí odpovídat 1. stupni McFarlandovy zákalové stupnice.

**Ověření čistoty inokula:**

V případě, že chcete ověřit čistotu inokula, proveďte stejnou kličkou jakou jste připravili suspenzi křížový roztěr. Inkubujte při 37°C. Čistotu kultury posuzujte po 24 hod.

**Příprava destičky ENTEROtest 16:**

- Otevřete aluminiový sáček odstříhnutím těsně vedle sváru a vyjměte destičku.
- Pomocí skalpelu odřízněte příslušný počet řad (stripů) destičky, odpovídající počtu testovaných kmenů (2 řady, tj. 2x8 testů, pro identifikaci jednoho kmene).
- Vyříznuté řady vyjměte z panelu, sejměte ochrannou Al fólii, řady umístěte do připraveného prázdného rámečku. V případě, že se soupravou MIKROLATEST® pracujete poprvé a prázdný rámeček nemáte k dispozici, použijte rámeček první destičky. Nevyužité stripy první destičky pak uložte ve skladovacím sáčku volně.

- Zaznamenejte čísla vyšetřovaných kultur na příslušné stripy.
- Zbytek nepoužitých destiček se sušidlem vložte do skladovacího sáčku a uložte do chladničky pro další použití; dbejte na to, aby destička byla chráněna před vlhkostí. Doporučujeme destičku po prvním použití spotřebovat do 4 týdnů.

**Inokulace:**

- Suspenzi před použitím důkladně homogenizujte.
- Inokulujte 0,1 ml suspenze do všech 16 jamek.
- Dbejte na to, aby nedošlo ke kontaminaci sousedních jamek.
- K testům sirovodík, lysin, indol, ornithin, ureáza přidejte po inokulaci 2 kapky sterilního parafinového oleje.
- Do zbytku suspenze (cca 0,6 ml) ve zkumavce vložte papírový test pro detekci hydrolyzy ONPG (ONPtest) a zkumavku zazátkujte.
- Pro zpřesnění identifikace u skupiny *Klebsiella* / *Enterobacter* / *Serratia* je možno provést VPtest. Pro stanovení β-glukuronidázové aktivity u suspektních kolonií naočkujte COLtest.
- V případě provedení COLtestu, ONPtestu ev. VPtestu se řiďte pokyny uvedenými v pracovním návodu příslušné soupravy.

**Poznámka:** Víčko destičky je potisknuto zkratkami testů a symboly:

- (zakapat parafinovým olejem) a ◊ (přidat činidlo).

V případě, že víčko v průběhu práce používáte na přikrytí destičky, před použitím jeho vnitřní stranu otřete ethanolem.

**Inkubace:**

- Destičku s naočkovanými stripy zasuňte do PE sáčku.
- Otevřený konec sáčku zahněte pod destičku, aby nedošlo k vyschnutí inokula.
- Zkumavky se zbytkem inokula a testem na hydrolyzu ONPG (případně COLtest či VPtest) ponechejte ve stojánku
- ENTEROtest 16 i zkumavky s ONPtestem inkubujte 18–24 hodin při 35–37 °C.

**Hodnocení:**

- Při hodnocení ENTEROtestu 16 se orientujte nejlépe podle Barevné škály, případně podle tabulky „Interpretace reakcí“ v návodu, nebo podle barevných reakcí kontrolních kmenů.
- Po 18–24 hod. inkubace přidejte po jedné kapce činidlo pro indol a činidlo pro fenylalanin do příslušných jamek. Dbejte na to, aby činidlo nebylo vkápnuto do sousední jamky (možnost falešných reakcí).
- Ihned odečtěte test na fenylalanin (pozitivní reakce mizí do 2 minut po přikápnutí činidla).
- Odečtěte ostatní testy ENTEROtest 16 i diagnostické proužky a výsledky zapište do formuláře.

**Identifikace:**

- Vyhodnocení identifikace doporučujeme provádět pomocí Kódové knihy nebo identifikačního programu ErbaExpert.
- Při identifikaci berte v úvahu i charakter kolonií, pigmentaci, mikroskopii, doplňkové testy, zdroj izolace apod.
- Identifikaci salmonel a shigel potvrďte serologicky.
- V případě neúspěšné identifikace opakujte ENTEROtest 16, případně identifikaci doplňte konvenčními testy.

**Nejčastější příčiny neúspěchu při identifikaci:**

- Kontaminovaná kultura.
- Použití malého objemu inokula nebo inokula o nesprávné hustotě.
- Při inokulaci testů došlo k odstříknutí inokula do sousední řady testů.
- Příslušné testy nebyly převrstveny parafinovým olejem.
- Při hodnocení bylo činidlo vkápnuto do vedlejší řady.
- Nedodržení doporučeného pracovního postupu.
- Může se jednat o atypický kmen nebo druh, který není uveden v identifikační tabulce.

**Likvidace použitého materiálu:**

- Po použití vložte destičku do nádoby pro infekční materiál a autoklávujte nebo zničte spálením.
- Prázdné papírové obaly se předají do sběru k recyklaci.

**Vlastnosti soupravy:**

Souprava byla testována na souboru 150 kmenů. 40% bylo správně identifikováno na úroveň druhu, 44% bylo správně identifikováno na úroveň rodu, 11% bylo identifikováno jako „Intermediální kmen“, 5% bylo identifikováno chybně.

**Kontrola kvality testů:**

Kvalita chemikálií používaných pro výrobu destiček ENTEROtest 16 je ověřována standardním testovacím postupem. Vyrobené série destiček jsou rovněž kontrolovány pomocí standardních referenčních kultur bakterií.

Také pro rutinní diagnostiku doporučujeme používat tyto standardní testovací kmeny pro ověření správnosti metodického postupu, průběhu testů a barevného vyjádření reakcí. Kontrolní kmeny lze doporučit použít s každou sérií neznámých kmenů a vždy při použití nové šarže soupravy, respektive dle validačního řádu laboratoře.

**Výsledky testů kontrolních kmenů v ENTEROtestu 16**

CCM No.	Řádek 1								Řádek 2							
	H <sub>2</sub> S	GLYS	IND	ORN	URE	PHE	ESL	SCI	MAL	INO	ADO	CEL	SUC	SOR	TRE	MAN
303	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
1799	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
2238	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2531	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- Vysvětlivky:**
- + ..... pozitivní reakce CCM 303 *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* (ATCC 13880)
  - ..... negativní reakce, CCM 1799 *Proteus* sp.
  - s ..... slabě pozitivní reakce CCM 2238 *Edwardsiella tarda* (ATCC 15947)
  - CCM 2531 *Enterobacter aerogenes*

Tyto kmeny dodává CCM – Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: [ccm@sci.muni.cz](mailto:ccm@sci.muni.cz).

Kmeny jsou dodávány v lyofilizovaném stavu nebo na želatinových discích.

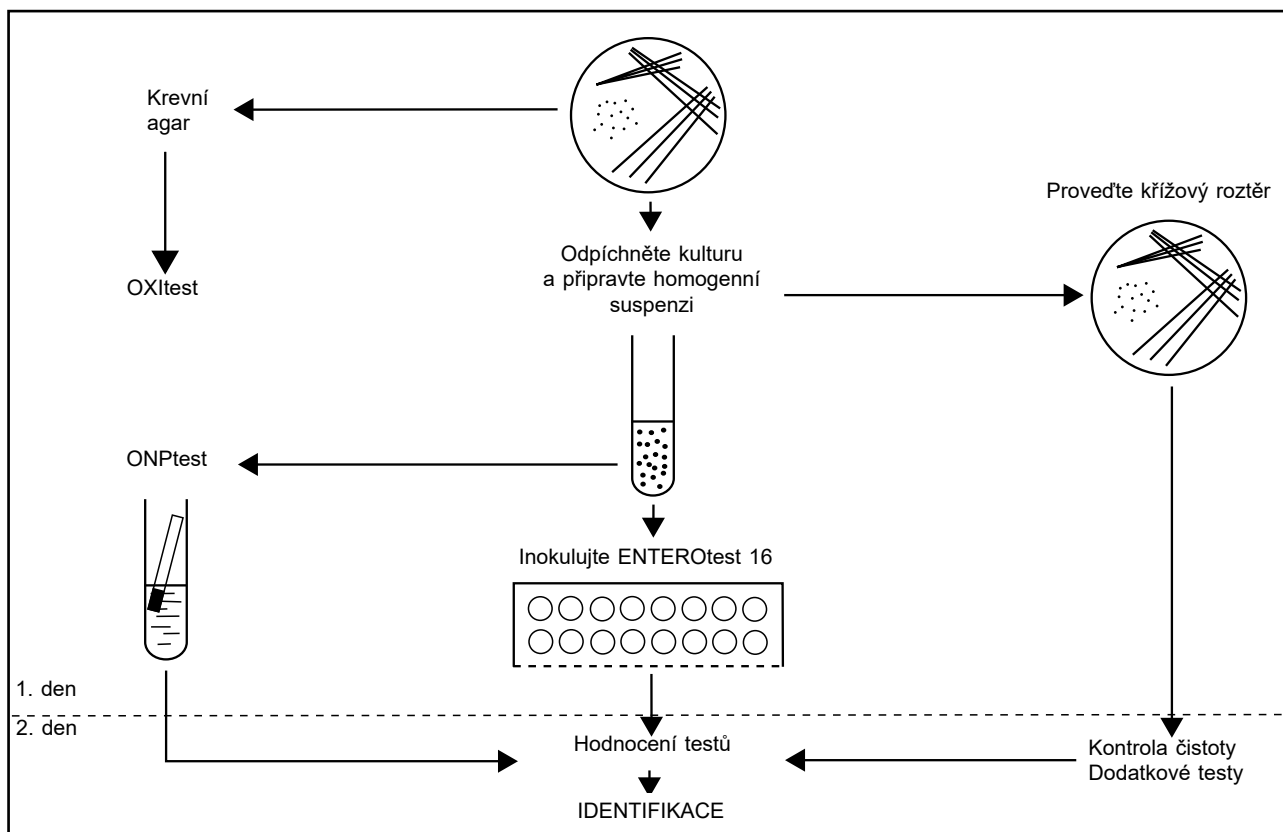
**Upozornění:** Na kontrolu funkčnosti soupravy je nutné použít vždy čerstvé izoláty kmenů CCM.

**Tyto kmeny slouží pro kontrolu funkčnosti soupravy, nikoli pro kontrolu správnosti, či úspěšnosti identifikace.**

INTERPRETACE REAKCÍ

Sloupec	Test	Zkratka testu	Reakce	
			pozitivní	negativní
<b>Řádek 1</b>				
H	Sírovodík	H <sub>2</sub> S	černá, tmavě šedá	bezbarvá, naředlá
G	Lysin	LYS	modrá, modrozelená	zelená, žlutozelená
F	Indol	IND	červenofialová, růžová	žlutá
E	Ornithin	ORN	modrá, modrozelená	zelená, žlutozelená
D	Ureáza	URE	červená, oranžovočervená	žlutá, světle oranžová
C	Fenylalanin	PHE	tmavě zelená, zelená	žlutá, žlutohnědá
B	Eskulin	ESL	černá, tmavě hnědá, tmavě šedá	bezbarvá, světle šedá, světle hnědá
A	Simmons citrát	SCI	modrá, modrozelená	zelená
<b>Řádek 2</b>				
H	Malonát	MAL	modrá, modrozelená	zelená
G	Inositol	INO	žlutá, žlutozelená	zelená
F	Adonitol	ADO	žlutá, žlutozelená	zelená
E	Celobióza	CEL	žlutá, žlutozelená	zelená
D	Sacharóza	SUC	žlutá, žlutozelená	zelená
C	Sorbitol	SOR	žlutá, žlutozelená	zelená
B	Trehalóza	TRE	žlutá, žlutozelená	zelená
A	Mannitol	MAN	žlutá, žlutozelená	zelená
OXItest	Oxidáza		modrá	bezbarvá
ONPtest	β-galaktosidáza		žlutá, nažloutlá	bezbarvá
COLItest	β-glukoronidáza		fluorescence	nefluoreskuje
VPtest	Acetoin		červená, růžová	bezbarvá, mírně narůžovělá

SCHÉMA PRACOVNÍHO POSTUPU










IDENTIFIKACE KLINICKY VÝZNAMNÝCH ENTEROBAKTÉRIÍ

ONP	Řádek 1									Řádek 2							VPT	
	H H <sub>2</sub> S	G LYS	F IND	E ORN	D URE	C PHE	B ESL	A SCI	H MAL	G INO	F ADO	E CEL	C SUC	B SOR	A TRE	MAN		
+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella arizonae	-
+	(+)	-	-	(-)	d	-	-	+	(-)	-	-	d	d	+	+	+	Citrobacter freundii	-
+	-	+	+	-	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Klebsiella oxytoca	+
+	-	+	d	d	-	-	d	+	-	+	d	+	d	+	+	+	Serratia odorifera	d
+	-	+	-	+	(-)	-	+	+	-	(+)	d	-	+	+	+	+	Serratia marcescens (a)	+
+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Enterobacter aerogenes	+
+	-	+	-	+	-	-	d	+	-	-	-	+	-	-	+	+	Yokenella regensburgei	-
+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	Klebsiella pneumoniae (b)	+
+	-	(+)	-	d	-	-	d	-	-	-	-	+	d	+	+	+	Escherichia coli	-
+	-	(+)	-	-	-	-	(-)	-	(+)	-	-	+	-	-	+	+	Escherichia vulneris	-
+	-	d	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	d	+	+	Kluyvera ascorbata	-
+	-	d	-	-	-	-	+	+	+	d	+	+	+	-	+	+	Serratia rubidaea	+
+	-	-	+	+	d	-	-	+	(+)	(-)	+	+	d	+	+	+	Citrobacter koseri	-
+	-	-	+	+	d	-	-	d	-	-	-	+	(-)	+	+	+	Citrobacter amalonaticus	-
+	-	-	+	+	+	-	d	-	-	-	-	+	d	-	+	+	Escherichia hermannii	-
+	-	-	+	-	d	-	+	-	+	-	+	+	d	-	+	+	Leclercia adecarboxylata	-
+	-	-	d	+	d	-	d	-	-	d	-	d	+	+	+	+	Yersinia enterocolitica (c)	-
+	-	-	(-)	+	-	(-)	+	+	(-)	d	-	+	+	-	+	+	Enterobacter sakazakii	+
+	-	-	-	+	d	-	d	+	d	(-)	d	+	+	+	+	+	Enterobacter cloacae	+
+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Shigella sonnei	-
+	-	-	-	d	-	d	+	d	+	-	-	d	+	-	+	+	Pantoea agglomerans	+
+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	d	d	+	+	+	+	+	Serratia ficaria (d)	(+)
(+)	-	+	+	+	-	-	d	(-)	d	-	+	+	-	-	+	+	Escherichia fergusonii	-
(+)	-	+	-	+	-	-	-	(-)	d	-	-	(-)	(-)	-	+	+	Hafnia alvei	(+)
(+)	-	d	-	-	(-)	-	(+)	d	-	d	+	+	(-)	d	+	+	Klebsiella ozaenae	-
d	-	-	d	+	d	-	-	-	-	(-)	-	+	-	+	+	+	Yersinia kristensenii	-
d	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	-	d	+	+	+	+	Yersinia rohdei	-
d	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Yersinia pseudotuberculosis	-
-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Edwardsiella tarda	-
-	+	+	-	+	-	-	-	(+)	-	d	-	-	-	+	+	+	Salmonella enteritidis (e)	-
-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella typhi	-
-	+	-	+	-	+	+	d	(-)	-	-	-	-	+	-	d	-	Proteus vulgaris	-
-	+	-	-	+	+	+	-	d	-	-	-	-	(-)	-	+	-	Proteus mirabilis	d
-	d	+	-	+	-	-	-	d	-	-	-	-	-	(+)	-	+	Salmonella choleraesuis	-
-	d	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	d	-	Proteus penneri	-
-	-	d	+	d	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Morganella morganii subsp. morganii	-
-	-	d	(+)	(+)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Morganella morganii subsp. sibonii	-
-	-	-	+	-	+	+	d	+	-	(+)	+	-	(-)	-	-	+	Providencia rettgeri	-
(-)	-	-	+	-	d	+	-	+	-	+	-	-	d	-	+	-	Providencia stuartii	-
-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	(-)	-	-	-	Providencia alcalifaciens	-
-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	d	+	Shigella boydii, S. flexneri	-
-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella paratyphi A.	-
-	-	-	-	-	-	-	d	-	+	+	+	+	d	+	+	+	Klebsiella rhinoscleromatis	-

- (a) ..... Stejné výsledky dává *S. liquefaciens* + ..... 90–100% pozitivních reakcí  
 (b) ..... Stejné výsledky dává *R. planticola* (+) ..... 80– 90% pozitivních reakcí  
 (c) ..... Stejné výsledky dává *Y. intermedia*, *Y. bercovieri*, *Y. mollaretii* d ..... 20– 80% pozitivních reakcí  
 (d) ..... Stejné výsledky dává *S. plymuthica* (-) ..... 10– 20% pozitivních reakcí  
 (e) ..... Stejné výsledky dává *S. typhimurium* - ..... 0– 10% pozitivních reakcí  
 (f) ..... Farmer, J. J., III., and Kelly, M. T. 1991: *Enterobacteriaceae*, pp. 360–395  
 In: Balows, A. et. al. (Ed. by), Manual of Clinical Microbiology, ASM, Washington, D.C.  
 Pozn.: *Citrobacter koseri* – dříve *Citrobacter diversus*

**Ochrana zdraví:** Komponenty soupravy nejsou klasifikovány jako nebezpečné.

POUŽITÉ SYMBOLY

 Katalogové číslo    
  In vitro diagnostikum    
  Výrobce    
  Čtěte návod k použití  
 Číslo šarže    
  Teplota skladování    
  Datum expirace

Datum revize: 31.1. 2018



Kat. č.: MLT00005

**Pre mikrobiológiu**

Súprava ENTEROtest 16 je určená na rutinnú identifikáciu významných druhov črevných baktérií z čeľade *Enterobacteriaceae*. Súprava umožňuje vykonať identifikáciu šesťdesiatich kmeňov pomocou šestnástich biochemických testov. Testy sú umiestnené v jamkách mikrotitračnej doštičky, vždy dve rady po ôsmich jamkách. Identifikáciu je možné doplniť testami na dôkaz oxidázy, β-galaktosidázy, β-glukoronidázy a VP reakcie dodávanými vo forme diagnostických prúžkov. Tieto testy sú dodávané zvlášť.

**Súprava ENTEROtest 16 obsahuje:**

- 10 mikrotitračných doštičiek (každá na identifikáciu 6 kmeňov) so sušidlom
- Návod na použitie s diferenciálnou tabuľkou
- Farebná porovnávací stupnica pre súpravu ENTEROtest 16
- 60 formulárov na záznam výsledkov
- Skladovací sáčok (na uloženie nezužitkovanej doštičky), 1 ks
- 10 PE vrecúšok na inkubáciu
- Viečko

**Skladovanie, exspirácia:**

ENTEROtest 16 je potrebné skladovať pri teplote (+2 až +8) °C. Čas exspirácie je vyznačený na každom balení.

**Odporúčany pracovný postup na ENTEROtest 16**

**Potreby pre prácu so súpravou ENTEROtest 16, ktoré nie sú súčasťou súpravy:**

- Činidlo na test INDOL (kat. č. MLT00020 – 630 stanovení)
- Činidlo na test FENYLALANÍN (kat. č. MLT00017 – 230 stanovení)
- Parafínový olej sterilizovaný (kat. č. MLT00042 - 150 stanovení)
- ONPtest (kat. č. MLT00038 – 50 stanovení)
- Petriho misky s krvným agarom
- Skúmavky (100 x 15) mm s 2,2 ml sterilného fyziologického roztoku
- Prístroj DENSILAMETER II (kat. č. INS00062)
- Vortex V1 (kat. č. 50001715)
- Krokovacia pipeta na 0,1 ml, sterilné špičky
- Termostat 37°C
- Bežné laboratórne mikrobiologické vybavenie (kľučky, popisovače, kahan)

**Potreby pre prácu s dodatkovými testami, ktoré nie sú súčasťou súpravy:**

- OXItest (kat. č. MLT00039 – 50 stanovení)
- Činidlo na test OXIDÁZA (kat. č. MLT00022 - 250 stanovení)
- COLItest (kat. č. MLT00035 – 50 stanovení)
- Činidlo na test INDOL (kat. č. MLT00020 - 120 stanovení)
- UV lampa (kat. č. 50001471)
- VPtest (kat. č. MLT00041 – 50 stanovení)
- Činidlo na test ACETOIN (kat. č. MLT00016 - 90 stanovení)

**Potrebné identifikačné pomôcky, ktoré nie sú súčasťou súpravy:**

- Kódová kniha pre súpravu ENTEROtest 16 - umiestnená na [www.erbalachema.com](http://www.erbalachema.com)
- Identifikačný program ErbaExpert

**Poznámka:** V prípade vyhodnocovania identifikácie pomocou Kódovej knihy je pre tvorbu číselného kódu - profilu nevyhnutné poznať výsledky testu ONPtest.

**Upozornenie:**

- Súprava je určená iba na profesionálne použitie

**Dodržujte zásady bezpečnosti práce s infekčným materiálom!**

**Izolácia kultúr:**

- Vykonajte konvenčnou technikou na odporučených médiách. **Poznámka:** potvrdenie príslušnosti k črevným baktériám vykonajte testom na fermentáciu glukózy (OFtest). Na vylúčenie druhov z rodu *Aeromonas*, *Plesiomonas* a *Vibrio* vykonajte z krvného agaru oxidázový test (OXItest).

**Príprava inokula:**

- Z čistej 24 hod. kultúry pripravte vo sterilnom fyziologickom roztoku suspenziu.
- Suspenziu dôkladne homogenizujte. Zákal suspenzie musí zodpovedať 1. stupňu McFarlandovej zákalovej stupnice.

**Posúdenie čistoty inokula:**

Tou istou kľučkou ako ste pripravili suspenziu, vykonajte súčasne krížový rozter. Po 24 hodinách inkubácie skontrolujte čistotu kultúry.

**Príprava doštičky ENTEROtest 16:**

- Otvorte alumíniový sáčok odstrihnutím tesne vedľa zvaru a vyberte doštičku.
- Pomocou skalpela odrežte príslušný počet radov (striпов) doštičky, odpovedajúci počtu testovaných kmeňov (2 riadky, tj. 16 jamiek, na identifikáciu jedného kmeňa).
- Vyrezané rady vyberte z doštičky, odstráňte ochrannú Al fóliu, rady umiestnite do pripraveného prázdneho rámička. V prípade, že so súpravou MIKROLATEST® pracujete prvý raz a prázdny rámiček nemáte k dispozícii, použite rámiček prvej doštičky. Nevyužitú stripy prvej doštičky potom uložte voľne v skladovacom sáčku.
- Zaznamenajte čísla vyšetovaných kultúr na príslušné stripy.
- Zbytok doštičky so sušidlom vložte do skladovacieho sáčka a uložte do chladničky na ďalšie použitie; dbajte na to, aby doštička bola chránená pred vlhkosťou. Odporúčame doštičku po prvom použití spotrebovať do 4 týždňov.



## Inokulácia:

- Suspenziu pred použitím dôkladne homogenizujte.
- Inokulujte 0,1 ml suspenzie do všetkých 16 jamiek.
- Dbajte na to, aby nedošlo ku kontaminácii susedných jamiek.
- K testom sírovodík, lyzin, indol, ornitín, ureáza pridajte po inokulácii 2 kvapky sterilného parafínového oleja.
- Do zvyšku suspenzie (cca 0,6 ml) v skúmavke vložte papierkový test na detekciu hydrolyzy ONPG (ONPtest) a skúmavku zazátkujte.
- Na spresnenie identifikácie pri skupine *Klebsiella/Enterobacter/Serratia* je možné vykonať VPtest. Na stanovenie β-glukuronidázovej aktivity pri suspektných kolóniách naočkujte COLtest. V prípade vykonania COLtestu, ONPtestu ev. VPtestu sa držte pokynov uvedených v pracovnom návode príslušnej súpravy.

**Poznámka:** Na viečku doštičky sú vytlačené skratky testov a symboly:

● (zakvapkať parafínovým olejom) a ◊ (pridať činidlo)

V prípade, že viečko v priebehu práce používate na prekrytie doštičky, pred použitím jeho vnútornú stranu otrite etanolom.

## Inkubácia:

- Doštičku s naočkovanými radmi zasunte do PE vrecúška.
- Otvorený koniec vrecúška zahnite pod doštičku, aby nedošlo k vyschnutiu inokula.
- Skúmavky so zvyškom inokula a testom na hydrolyzu ONPG (prip. COLtest či VPtest) ponechajte v stojančeku.
- ENTEROtest 16 i skúmavky s ONPtestom inkubujte 18–24 hodín pri 35–37 °C.

## Hodnotenie:

- Pri hodnotení ENTEROtestu 16 sa orientujte podľa Farebnej porovnávacej stupnice, podľa tabuľky „Interpretácia reakcií“, alebo podľa farebných reakcií kontrolných kmeňov.
- Po 18–24 hod. inkubácie pridajte po jednej kvapke činidla na indol a činidla pre fenylalanín do príslušných jamiek. Dbajte na to, aby činidlo nebolo nakvapkané do susednej jamky (možnosť falošných reakcií).
- Ihneď prečítajte test na fenylalanín (pozitívna reakcia mizne do 2 minút po prikvapnutí činidla).
- Prečítajte ostatné testy ENTEROtestu 16 i diagnostické prúžky a výsledky zapíšte do formulára.

## Identifikácia:

- Vyhodnotenie identifikácie doporučujeme pomocou Kódovej knihy alebo identifikačného programu ErbaExpert.
- Pri identifikácii berte do úvahy i charakter kolónií, pigmentáciu, mikroskopiu, doplnkové testy, zdroj izolácie a pod.
- Identifikáciu salmonel a shigel potvrdte sérologicky.
- V prípade neúspešnej identifikácie opakujte ENTEROtest 16, prípadne identifikáciu doplňte konvenčnými testami.

## Najčastejšie príčiny neúspechu pri identifikácii:

- Kontaminovaná kultúra.
- Použitie malého objemu inokula s nesprávnou hustotou.
- Pri inokulácii testov došlo k odstreknutí inokula do susedného radu testov.
- Príslušné testy neboli prevrstvené parafínovým olejom.
- Pri hodnotení bolo činidlo nakvapkané do vedľajšieho riadka.
- Nedodržanie odporúčaného pracovného postupu.
- Môže sa jednať o atypický kmeň alebo druh, ktorý nie je uvedený v identifikačnej tabuľke.

## Likvidácia ENTEROtestu 16:

- Po použití vložte doštičku do nádoby na infekčný materiál a autoklávujte alebo zničte spálením.
- Prázdne papierové obaly dajte do zberu k recyklácii.

## Vlastnosti súpravy:

Súprava bola testovaná na súbore 150 kmeňov. 40% bolo správne identifikovaných na úroveň druhu, 44% bolo správne identifikovaných na úroveň rodu, 11% bolo identifikovaných ako „Intermediálny kmeň“, 5% bolo identifikovaných nesprávne.

## Kontrola kvality testov:

Kvalita chemikálií používaných na výrobu doštičiek ENTEROtest 16 je overovaná štandardným testovacím postupom. Vyrobené série doštičiek sú taktiež kontrolované pomocou štandardných referenčných kultúr baktérií. Taktiež pre rutinnú diagnostiku praxou doporučujeme používať tieto štandardné testovacie kmene na overenie správnosti metodického postupu, priebehu testov a farebného vyjadrenia reakcií. Kontrolné kmene sa odporúča použiť s každou sériou neznámych kmeňov a vždy pri použití novej šarže, súpravy, resp. podľa validačného poriadku laboratória.

## Výsledky testov kontrolných kmeňov v ENTEROteste 16

CCM No.	Riadok 1								Riadok 2							
	H <sub>2</sub> S	LYS	IND	ORN	URE	PHE	ESL	SCI	MAL	INO	ADO	CEL	SUC	SOR	TRE	MAN
303	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
1799	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
2238	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2531	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Vysvetlivky:**  
 + ..... pozitívna reakcia CCM 303 *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* (ATCC 13880)  
 - ..... negatívna reakcia CCM 1799 *Proteus* sp.  
 S ..... mierne pozitívna reakcia CCM 2238 *Edwardsiella tarda* (ATCC 15947)  
 CCM 2531 *Enterobacter aerogenes*

## Upozornenie:

Na kontrolu funkčnosti súpravy je nutné použiť vždy čerstvé izoláty kmeňov CCM.

Tieto kmene slúžia na kontrolu funkčnosti súpravy, nie na kontrolu správnosti, či úspešnosti identifikácie.

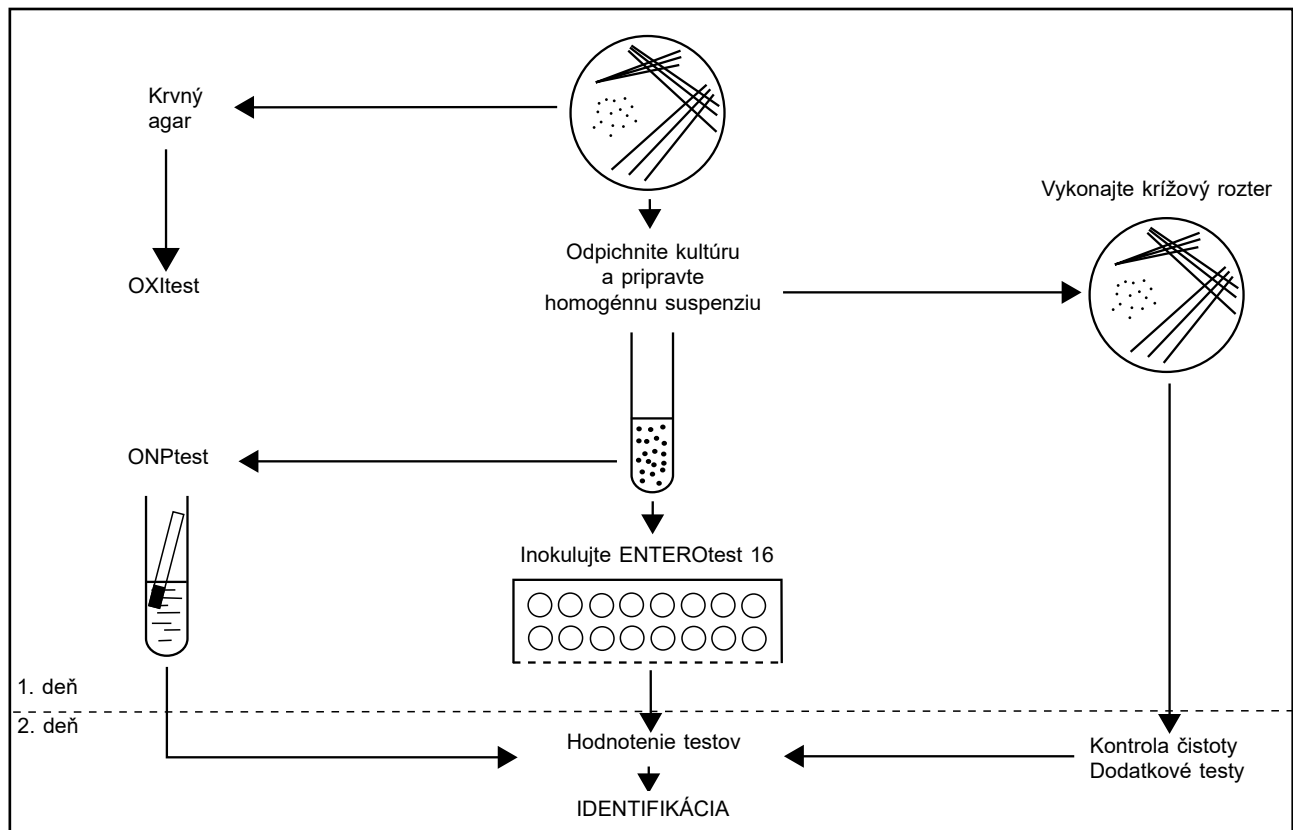
Tieto kmene môžete dostať z CCM – Česká sbírka mikroorganizmů, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: [ccm@sci.muni.cz](mailto:ccm@sci.muni.cz).

Kmene sú dodávané v lyofilizovanom stave alebo na želatinových diskoch.

INTERPRETÁCIA REAKCIÍ

Stĺpec	Test	Skratka testu	Reakcia	
			pozitívna	negatívna
Riadok 1				
H	Sírovodík	H <sub>2</sub> S	čierna, tmavo šedá	bezfarebná, sivastá
G	Lyzin	LYS	modrá, modrozelená	zelená, žltozelená
F	Indol	IND	červenofialová, ružová	žltá
E	Ornitín	ORN	modrá, modrozelená	zelená, žltozelená
D	Ureáza	URE	červená, oranžovočervená	žltá, svetlooranžová
C	Fenylalanín	PHE	tmavozelená, zelená	žltá, žltohnedá
B	Eskulín	ESL	čierna, tmavohnedá, tmavošedá	bezfarebná, svetlosivá, svetlohnedá
A	Simmons citrát	SCI	modrá, modrozelená	zelená
Riadok 2				
H	Malonát	MAL	modrá, modrozelená	zelená
G	Inozitol	INO	žltá, žltozelená	zelená
F	Adonidol	ADO	žltá, žltozelená	zelená
E	Celobióza	CEL	žltá, žltozelená	zelená
D	Sacharóza	SUC	žltá, žltozelená	zelená
C	Sorbitol	SOR	žltá, žltozelená	zelená
B	Trehalóza	TRE	žltá, žltozelená	zelená
A	Manitol	MAN	žltá, žltozelená	zelená
OXItest	Oxidáza		modrá	bezfarebná
ONPtest	β-galaktosidáza		žltá, žltkastá	bezfarebná
COLItest	β-glukoronidáza		fluorescencia	nefluoreskuje
VPtest	Acetoín		červená, ružová	bezfarebná, mierne ružovkastá

SCHÉMA PRACOVNÉHO POSTUPU










IDENTIFIKÁCIA KLINICKY VÝZNAMNÝCH ENTEROBAKTÉRIÍ

ONP	Riadok 1									Riadok 2							VPT	
	H H <sub>2</sub> S	G LYS	F IND	E ORN	D URE	C PHE	B ESL	A SCI	H MAL	G INO	F ADO	E CEL	C SUC	B SOR	A TRE	MAN		
+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella arizonae	-
+	(+)	-	-	(-)	d	-	-	+	(-)	-	-	d	d	+	+	+	Citrobacter freundii	-
+	-	+	+	-	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Klebsiella oxytoca	+
+	-	+	d	d	-	-	d	+	-	+	d	+	d	+	+	+	Serratia odorifera	d
+	-	+	-	+	(-)	-	+	+	-	(+)	d	-	+	+	+	+	Serratia marcescens (a)	+
+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Enterobacter aerogenes	+
+	-	+	-	+	-	-	d	+	-	-	-	+	-	-	+	+	Yokenella regensburgi	-
+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	Klebsiella pneumoniae (b)	+
+	-	(+)	-	d	-	-	d	-	-	-	-	+	d	+	+	+	Escherichia coli	-
+	-	(+)	-	-	-	-	(-)	-	(+)	-	-	+	-	-	+	+	Escherichia vulneris	-
+	-	d	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	d	+	+	Kluyvera ascorbata	-
+	-	d	-	-	-	-	+	+	+	d	+	+	+	-	+	+	Serratia rubidaea	+
+	-	-	+	+	d	-	-	+	(+)	(-)	+	+	d	+	+	+	Citrobacter koseri	-
+	-	-	+	+	d	-	-	d	-	-	-	+	(-)	+	+	+	Citrobacter amalonaticus	-
+	-	-	+	+	-	-	d	-	-	-	-	+	d	-	+	+	Escherichia hermannii	-
+	-	-	+	-	d	-	+	-	+	-	+	+	d	-	+	+	Leclercia adecarboxylata	-
+	-	-	d	+	d	-	d	-	-	d	-	d	+	+	+	+	Yersinia enterocolitica (c)	-
+	-	-	(-)	+	-	(-)	+	+	(-)	d	-	+	+	-	+	+	Enterobacter sakazakii	+
+	-	-	-	+	d	-	d	+	d	(-)	d	+	+	+	+	+	Enterobacter cloacae	+
+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Shigella sonnei	-
+	-	-	-	d	-	d	+	d	+	-	-	d	+	-	+	+	Pantoea agglomerans	+
+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	d	d	+	+	+	+	+	Serratia ficaria (d)	(+)
(+)	-	+	+	+	-	-	d	(-)	d	-	+	+	-	-	+	+	Escherichia fergusonii	-
(+)	-	+	-	+	-	-	-	(-)	d	-	-	(-)	(-)	-	+	+	Hafnia alvei	(+)
(+)	-	d	-	-	(-)	-	(+)	d	-	d	+	+	(-)	d	+	+	Klebsiella ozaenae	-
d	-	-	d	+	d	-	-	-	-	(-)	-	+	-	+	+	+	Yersinia kristensenii	-
d	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	-	d	+	+	+	+	Yersinia rohdei	-
d	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Yersinia pseudotuberculosis	-
-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Edwardsiella tarda	-
-	+	+	-	+	-	-	-	(+)	-	d	-	-	-	+	+	+	Salmonella enteritidis (e)	-
-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella typhi	-
-	+	-	+	-	+	+	d	(-)	-	-	-	-	+	-	d	-	Proteus vulgaris	-
-	+	-	-	+	+	+	-	d	-	-	-	-	(-)	-	+	-	Proteus mirabilis	d
-	d	+	-	+	-	-	-	d	-	-	-	-	-	(+)	-	+	Salmonella choleraesuis	-
-	d	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	d	-	Proteus penneri	-
-	-	d	+	d	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Morganella morganii subsp. morganii	-
-	-	d	(+)	(+)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Morganella morganii subsp. sibonii	-
-	-	-	+	-	+	+	d	+	-	(+)	+	-	(-)	-	-	+	Providencia rettgeri	-
(-)	-	-	+	-	d	+	-	+	-	+	-	-	d	-	+	-	Providencia stuartii	-
-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	(-)	-	-	-	Providencia alcalifaciens	-
-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	d	+	Shigella boydii, S. flexneri	-
-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella paratyphi A.	-
-	-	-	-	-	-	-	d	-	+	+	+	+	d	+	+	+	Klebsiella rhinoscleromatis	-

- (a).....Rovnaké výsledky dáva *S. liquefaciens* + ..... 90–100% pozitívnych reakcií  
 (b).....Rovnaké výsledky dáva *R. planticola* (+)..... 80– 90% pozitívnych reakcií  
 (c).....Rovnaké výsledky dáva *Y. intermedia*, *Y. bercovieri*, *Y. mollaretii* d..... 20– 80% pozitívnych reakcií  
 (d).....Rovnaké výsledky dáva *S. plymuthica* (-)..... 10– 20% pozitívnych reakcií  
 (e).....Rovnaké výsledky dáva *S. typhimurium* - ..... 0– 10% pozitívnych reakcií  
 (f) .....Farmer, J. J., III., and Kelly, M. T. 1991: *Enterobacteriaceae*, pp. 360–395  
 In: Balows, A. et. al. (Ed. by), *Manual of Clinical Microbiology*, ASM, Washington, D.C.  
 Pozn.: *Citrobacter koseri* – predtým *Citrobacter diversus*

**Ochrana zdravia:** Komponenty súpravy nie sú klasifikované ako nebezpečné.

POUŽITÉ SYMBOLY

 Katalógové číslo    
  In vitro diagnostikum    
  Výrobca    
  Čítajte návod k použitiu  
 Číslo šarže    
  Teplota skladovania    
  Dátum expirácie



# ENTEROtest 16

Cat. No.: MLT00005

## For microbiology

The ENTEROtest 16 kit is intended for the differentiation of important species of the family *Enterobacteriaceae* within 24 hours. It is a ready-to-use microwell plate system with 16 biochemical tests. Kit enables sixty examinations. The identification can be supplemented by the paper strip tests for the detection of cytochrome oxidase,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -glucuronidase and Voges-Proskauer reaction. These tests are supported additionally.

### The ENTEROtest 16 contains:

- 10 microtitration plates (for the identification of 6 isolates each) with desiccant
- Instructions for use with a differentiation table
- Colour scale for ENTEROtest 16 kit
- 60 record sheets
- 10 polythene bags for incubation
- Storage bag (for storage of open plate), 1 pc
- Lid

### Storage, expiration:

The ENTEROtest 16 kits should be stored in a refrigerator at (+2 to +8) °C. The expiration is indicated on each package.

## Recommended procedure

### Material required for work (not included in the kit):

- Reagent for INDOL test (Cat. No. MLT00020 – 630 determinations)
- Reagent for PHENYLALANINE (Cat. No. MLT00017 – 230 determinations)
- Paraffin oil (Cat. No. MLT00042 - 150 determinations)
- ONPtest (Cat. No. MLT00038 – 50 determinations)
- Plates with blood agar
- Test tubes (100x15) mm with 2.2 ml of sterile saline
- Instrument DENSILAMETER II (Cat. No. INS00062)
- Vortex V1 (Cat. No. 50001715)
- Pipette 0.1 ml, sterile tips
- Thermostat 37 °C
- Inoculation loop, burner, marking pen, container with disinfectant

### Material required for work with additional tests (not included in the kit):

- OXItest (Cat. No. MLT00039 – 50 determinations)
- Reagent for OXIDASE test (Cat. No. MLT00022 – 250 determinations)
- COLItest (Cat. No. MLT00035 – 50 determinations)
- Reagent for INDOL test (Cat. No. MLT00020 - 120 determinations)
- UV lamp (Cat. No. 50001471)
- VPtest (Cat. No. MLT00041 – 50 determinations)
- Reagent for ACETOIN test (Cat. No. MLT00016 - 90 determinations)

### Evaluation equipment (not included to the kit):

- Code Book for ENTEROtest 16 - located at [www.erbalachema.com](http://www.erbalachema.com)
- The ErbaExpert Identification Program

**Note:** If Code book is used for evaluation it is necessary to perform ONPtest to create correct profile.

### Caution:

- For professional use only

**Follow the principles for working with infectious material!**

### Isolation cultures:

- Perform the isolation of culture by usual techniques on recommended media (MacConkey or Endo agar).
- Perform test for fermentation of glucose (OFtest) to confirm that isolate belongs among fermenting bacteria.
- Carry out the cytochrome oxidase test by OXItest strip to differentiate species of the genera *Aeromonas*, *Plesiomonas* and *Vibrio* which are oxidase positive.

### Preparation of inoculum:

- Use a pure, 24 hours old culture of Gram-negative, oxidase negative rods.
- From a pure culture on MacConkey agar (or Endo agar) make a suspension in sterile saline.
- Homogenize suspension thoroughly.
- The suspension must have a turbidity equal to McFarland No. 1 turbidity scale.

### Culture purity control:

If required, confirm the purity of the suspension by streaming-out a sample from the inoculated suspension medium on cultivation medium. Incubate at 37 °C. Check after 24 hours.

### Preparation of ENTEROtest 16 plate:

- Open the aluminium sachet close to the weld and take out the plate.
- Cut off required number of strips from plate.
- Remove the adhesive tape from individual strips and insert them into prepared frame. In case of your working with MIKROLATEST® kit for the first time and any empty frame is not available, utilize the frame of the first plate. The unexploited strips of the first plate put into the storage bag, freely available.
- Record number of the strains or isolates to be examined on the appropriate strips.
- Put the rest of the plate with desiccant to the storage bag, enclosed with the kit, and store it in a refrigerator for further use; keep in mind to protect it from humidity. It is recommended to spend the rest of plate till 4 weeks after first use.
- Disinfect the frame in a case of repeated use.

## Inoculation:

- Homogenize the suspension thoroughly before use.
- Inoculate 0.1 ml of the suspension into all 16 microwells.
- Do not dispense the inoculum too vigorously to prevent aerosol contamination of the wells of adjacent strip.
- After inoculation overlay the following tests with paraffin oil: Microwells H, G, F, E, D (row 1, tests for hydrogen sulphide, lysine, indole, ornithine, urease).
- Put ONPtest strip with the sterile forceps into tube with remaining inoculum (approx. 0.6 ml).

### Note:

- To confirm the suspected *Escherichia coli*, perform the COLtest.
- In case of suspected *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group, the performance of VPtest is recommended.
- For the performance of ONPtest, COLtest and VPtest follow the instructions in appropriate leaflet.

**Note:** a lid is printed with abbreviated names of tests and graphic symbols:

- (drop paraffin oil) and ∅ (drop reagent).

Clean the inside of the lid by ethanol just before to use it as a cover of plate in working procedure.

## Incubation:

- Put the frame with strips into a polythene bag.
- Fold the open end of the bag under the plate to prevent desiccation during incubation.
- Incubate the inoculated plate and ONPtest at (+35 to +37)°C for 18–24 hours.

## Reading:

- Read the reactions according to Colour Scale for ENTEROtest 16 or use table "Interpretation of reactions" in this instruction or compare with the colour reactions of the control strains.
- Add one drop of reagents into the following wells:  
F – row 1: (INDOLE)  
C – row 1: (PHENYLALANINE)
- Read the phenylalanine reaction immediately (coloration in positive reaction fades in 2 minutes).
- Prevent contamination of the adjacent microwells (possibility of false reactions).

## Identification:

- For the identification use the differentiation table, or better the Code book or the Identification programme ErbaExpert.
- To complete the identification, take all the results available into consideration, i.e. the source of culture, appearance and consistency of colonies, growth on selective media etc.
- The biochemical identification of *Salmonella*, *Shigella* and *Escherichia coli* responsible for gastroenteritis, must be considered as presumptive and confirmed by serology.
- If you have failed to identify the culture repeat the procedure as above.

## The most frequent causes of identification failure:

- Contaminated culture
- Using inoculum of low density or small volume
- Inoculum has contaminated adjacent strip
- The corresponding test were not overlaid by paraffin oil
- The reagent was dropped into adjacent row
- Failure to follow the recommended procedure
- There may be a species or strain whose data are not included in the differentiation table or Code book

## Limitation:

ENTEROtest 16 is intended for the identification of *Enterobacteriaceae* members strains. Other bacteria do not necessarily give reliable results when using ENTEROtest 16.

## Disposal of used material:

After use, all ampoules, strips and tips must be autoclaved or incinerated.  
Put paper packaging waste to recycling.

## Performance:

The kit was tested on a set of 150 strains.  
The identification of 40% strains to the species level was correct, the identification of 44% strains to the genus level was correct, 11% of the strains were identified as "Intermedia strain", 5% were identified incorrectly.

**Quality control of ENTEROtest 16:** The kits are systematically quality controlled at various stages of their manufacture. The control strains are recommended to use with every series of unknown strains, with every new batch of the kit and according to validation system of laboratory, respectively. For those who wish to perform their own quality control tests, the following cultures are recommended:

Test results of control strains

CCM No.	Row 1								Row 2							
	H H <sub>2</sub> S	G LYS	F IND	E ORN	D URE	C PHE	B ESL	A SCI	H MAL	G INO	F ADO	E CEL	D SUC	C SOR	B TRE	A MAN
303	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
1799	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
2238	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2531	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Explanations:** + positive reaction CCM 303 *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* (ATCC 13880)  
- negative reaction CCM 1799 *Proteus* sp.  
s weak reaction CCM 2238 *Edwardsiella tarda* (ATCC 15947)  
CCM 2531 *Enterobacter aerogenes*

## Caution:

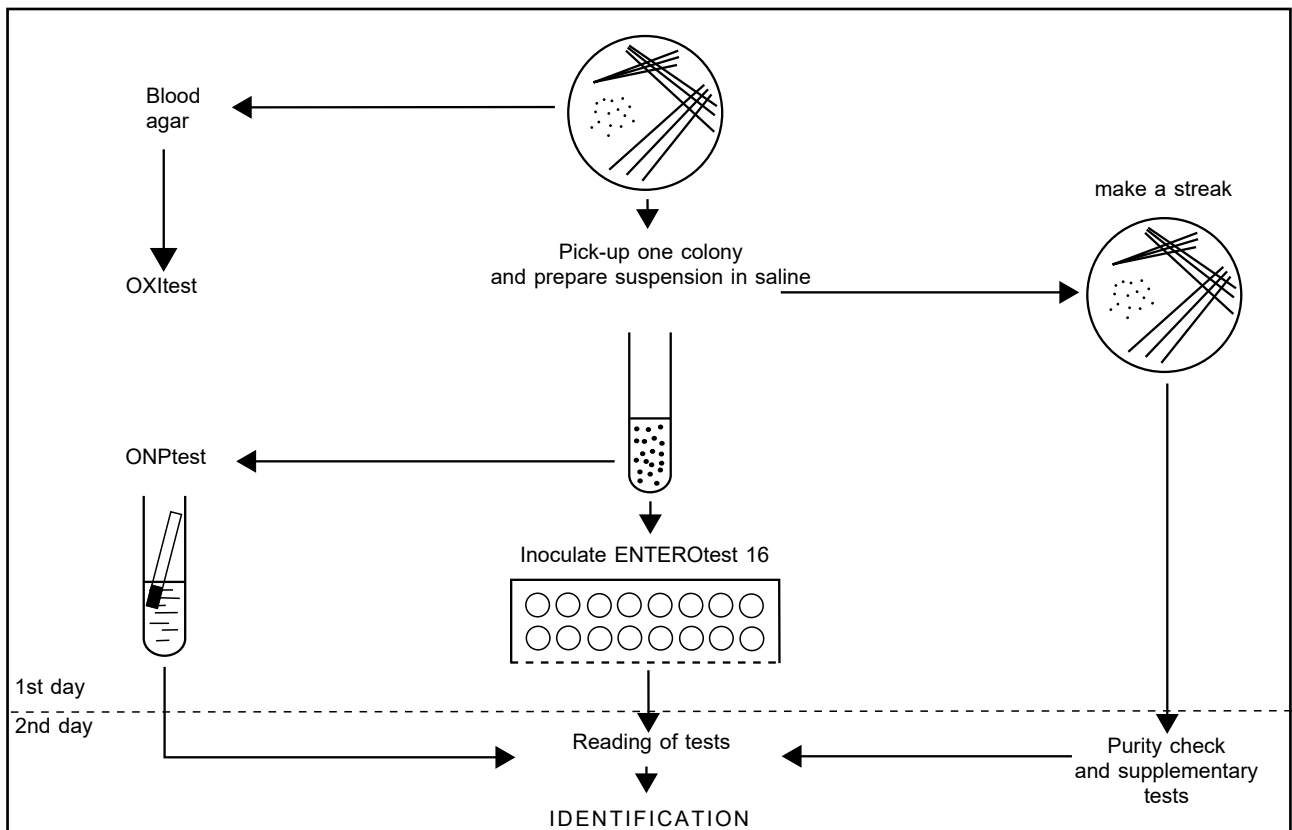
It is necessary to use fresh isolates of the CCM strains each time when kit checked up for functionality.  
**These strains are intended for check-up of the functionality of the kit, not for check-up of accuracy or effect of the identification.**

These strains are supplied in freeze-dried ampoules by: the CCM – Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Faculty of Science, Kamenice 5, building A25, 625 00 Brno, CZ, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: [ccm@sci.muni.cz](mailto:ccm@sci.muni.cz)

**INTERPRETATION OF REACTIONS**

Column	Test	Code	Reaction	
			positive	negative
<b>Row 1</b>				
H	Hydrogen sulphide	H <sub>2</sub> S	black or dark grey	colourless or pale grey
G	Lysine	LYS	blue or blue green	green or yellow green
F	Indole	IND	red-violet or pink	yellow
E	Ornithine	ORN	blue or blue-green	green or yellow-green
D	Urease	URE	red or orange-red	yellow or pale orange
C	Phenylalanine	PHE	dark green, green	yellow or yellow-brown
B	Esculin	ESL	black or dark brown, dark grey	colourless, pale grey, pale brown
A	Simmons citrate	SCI	blue or blue-green	green
<b>Row 2</b>				
H	Malonate	MAL	blue or blue-green	green
G	Inositol	INO	yellow or yellow-green	green
F	Adonitol	ADO	yellow or yellow-green	green
E	Cellobiose	CEL	yellow or yellow-green	green
D	Sucrose	SUC	yellow or yellow-green	green
C	Sorbitol	SOR	yellow or yellow-green	green
B	Trehalose	TRE	yellow or yellow-green	green
A	Mannitol	MAN	yellow or yellow-green	green
OXItest	Oxidase		blue	colourless
ONPtest	beta-galatosidase		yellow or pale-yellow	colourless
COLItest	beta-glukuronisade		fluorescence	no fluorescence
VPtest	Acetoin		red or pink	colourless or pale pink

**RECOMMENDED PROCEDURE**



**DIFFERENTIATION OF CLINICAL IMPORTANT ENTEROBACTERIACEAE**

ONP	Row 1									Row 2							VPT	
	H H <sub>2</sub> S	G LYS	F IND	E ORN	D URE	C PHE	B ESL	A SCI	H MAL	G INO	F ADO	E CEL	D SUC	C SOR	B TRE	A MAN		
+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella arizonae	-
+	(+)	-	-	(-)	d	-	-	+	(-)	-	-	d	d	+	+	+	Citrobacter freundii	-
+	-	+	+	-	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Klebsiella oxytoca	+
+	-	+	d	d	-	-	d	+	-	+	d	+	d	+	+	+	Serratia odorifera	d
+	-	+	-	+	(-)	-	+	+	-	(+)	d	-	+	+	+	+	Serratia marcescens (a)	+
+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Enterobacter aerogenes	+
+	-	+	-	+	-	-	d	+	-	-	-	+	-	-	+	+	Yokenella regensburgi	-
+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	Klebsiella pneumoniae (b)	+
+	-	(+)	-	d	-	-	d	-	-	-	-	-	d	+	+	+	Escherichia coli	-
+	-	(+)	-	-	-	-	(-)	-	(+)	-	-	+	-	-	+	+	Escherichia vulneris	-
+	-	d	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	d	+	+	Kluyvera ascorbata	-
+	-	d	-	-	-	-	+	+	+	d	+	+	+	-	+	+	Serratia rubidaea	+
+	-	-	+	+	d	-	-	+	(+)	(-)	+	+	d	+	+	+	Citrobacter koseri	-
+	-	-	+	+	d	-	-	d	-	-	-	+	(-)	+	+	+	Citrobacter amalonaticus	-
+	-	-	+	+	-	-	d	-	-	-	-	+	d	-	+	+	Escherichia hermannii	-
+	-	-	+	-	d	-	+	-	+	-	+	+	d	-	+	+	Leclercia adecarboxylata	-
+	-	-	d	+	d	-	d	-	-	d	-	d	+	+	+	+	Yersinia enterocolitica (c)	-
+	-	-	(-)	+	-	(-)	+	+	(-)	d	-	+	+	-	+	+	Enterobacter sakazakii	+
+	-	-	-	+	d	-	d	+	d	(-)	d	+	+	+	+	+	Enterobacter cloacae	+
+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Shigella sonnei	-
+	-	-	-	d	-	d	+	d	+	-	-	d	+	-	+	+	Pantoea agglomerans	+
+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	d	d	+	+	+	+	+	Serratia ficaria (d)	(+)
(+)	-	+	+	+	-	-	d	(-)	d	-	+	+	-	-	+	+	Escherichia fergusonii	-
(+)	-	+	-	+	-	-	-	(-)	d	-	-	(-)	(-)	-	+	+	Hafnia alvei	(+)
(+)	-	d	-	-	(-)	-	(+)	d	-	d	+	+	(-)	d	+	+	Klebsiella ozaenae	-
d	-	-	d	+	d	-	-	-	-	(-)	-	+	-	+	+	+	Yersinia kristensenii	-
d	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	-	d	+	+	+	+	Yersinia rohdei	-
d	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Yersinia pseudotuberculosis	-
-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Edwardsiella tarda	-
-	+	+	-	+	-	-	-	(+)	-	d	-	-	-	+	+	+	Salmonella enteritidis (e)	-
-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella typhi	-
-	+	-	+	-	+	+	d	(-)	-	-	-	-	+	-	d	-	Proteus vulgaris	-
-	+	-	-	+	+	+	-	d	-	-	-	-	(-)	-	+	-	Proteus mirabilis	d
-	d	+	-	+	-	-	-	d	-	-	-	-	-	(+)	-	+	Salmonella choleraesuis	-
-	d	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	d	-	Proteus penneri	-
-	-	d	+	d	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Morganella morganii subsp. morganii	-
-	-	d	(+)	(+)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Morganella morganii subsp. sibonii	-
-	-	-	+	-	+	+	d	+	-	(+)	+	-	(-)	-	-	+	Providencia rettgeri	-
(-)	-	-	+	-	d	+	-	+	-	+	-	-	d	-	+	-	Providencia stuartii	-
-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	(-)	-	-	-	Providencia alcalifaciens	-
-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	d	+	Shigella boydii, S. flexneri	-
-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella paratyphi A.	-
-	-	-	-	-	-	-	d	-	+	+	+	+	d	+	+	+	Klebsiella rhinoscleromatis	-

- (a) ..... Similar results in *S. liquefaciens* + ..... 90–100% of positive reactions
  - (b) ..... Similar results in *R. planticola* (+) ..... 80–90% of positive reactions
  - (c) ..... Similar results in *Y. intermedia*, *Y. bercovieri*, *Y. mollaretii* d ..... 20–80% of positive reactions
  - (d) ..... Similar results in *S. plymuthica* (-) ..... 10–20% of positive reactions
  - (e) ..... Stejné výsledky dává *S. typhimurium* - ..... 0–10% of positive reactions
  - (f) ..... Farmer, J. J., III and Kelly, M. T. 1991; *Enterobacteriaceae*, pp. 360–395
- In: Balows, A. et al. (Ed. by), Manual of Clinical Microbiology, ASM, Washington, D. C.  
 Note: *Citrobacter koseri* – former *Citrobacter diversus*

**Health protection:** Components of the kit are not classified as dangerous.

**USED SYMBOLS**

<b>REF</b> Catalogue number	<b>IVD</b> In vitro diagnostics	Manufacturer	See instruction for use
<b>LOT</b> Lot number	Storage temperature	Expiry date	

10003376

Date of revision: 31.1. 2018



# ЭНТЕРОтест 16

Ном. номер: *MLT00005*

## Для микробиологии

Набор ЭНТЕРОтест 16 предназначен для идентификации наиболее важных для патологии человека микроорганизмов семейства энтеробактерий в течение 24 часов. Набор рассчитан на 60 определений и включает 10 стриппированных пластмассовых пластинок размером 8,5x12,5 см, содержащих 96 ячеек (6 двурядных стрипов) с высушенными питательными средами и субстратами для 16 тестов: сероводород, лизин, индол, орнитин, уреазы, фенилаланин, эскулин, цитрат симмонса, малонат, инозитол, адонитол, целлобиоза, сахароза, сорбитол, трегалоза и маннитол. Идентификация может быть дополнена тестами на бумажных полосках для определения цитохромоксидазы (ОКСИтест), β-галактозидазы (ОНПтест) и продукции ацетона (ВПтест).

**Набор ЭНТЕРОтест 16 содержит:**

- 10 микротитровальных пластинок (каждая для идентификации 6 штаммов) с силикагелем
- Инструкцию для пользователя с Идентификационной таблицей
- Цветная шкала для ЭНТЕРОтест 16
- 10 полиэтиленовых пакетиков для инкубации
- Пакет для хранения частично использованной пластинки, 1 шт.
- 60 бланков для регистрации результатов
- Рамку пластинки с крышкой для инкубации

**Условия хранения, срок годности:**

ЭНТЕРОтест 16 следует хранить при температуре от +2 до +8 °С. Срок годности указан на каждой упаковке.

## Инструкция к постановке ЭНТЕРОтест 16

**Материалы (не входят в набор):**

- Реактив для теста ИНДОЛ, Ном. номер MLT00020 – более чем для 630 определений
- Реактив для теста ФЕНИЛАЛАНИН, Ном. номер MLT00017 – более чем для 230 определений
- Парафиновое масло, стерильное, Ном. номер MLT00042 – 3 x 18 мл – 150 определений
- ОНПтест, Ном. номер MLT00038 – для 50 определений
- Чашки Петри с кровавым агаром
- Пробирки с 2,2 мл стерильного физиологического раствора (рН 6,5–7,2)
- Прибор ДЕНСИЛАМЕТР II, Ном. номер INS00062
- Вортекс V1, Ном. номер 50001715
- Автоматическая микропипетка (объемом 0,1 мл), стерильные наконечники
- Термостат (35–37) °С
- Традиционное оснащение микробиологической лаборатории (микробиологические петли, маркировочные карандаши)

**Дополнительные поставляемые материалы (не входят в набор):**

- ОКСИтест, Ном. номер MLT00039 – для 50 определений
- Реактив для теста ОКСИДАЗА, Ном. номер MLT00022 – для 250 определений
- КОЛИтест, Ном. номер MLT00035 – для 50 определений
- Реактив для теста ИНДОЛ, Ном. номер MLT00020 – более чем для 120 определений
- УФ лампа, Ном. номер 50001471
- ВПтест, Ном. номер MLT00041 – для 50 определений
- Реактив для теста АЦЕТОИН, Ном. номер MLT00016 – для 90 определений

**Пособия для идентификации (не входят в набор):**

- Книга кодов для ЭНТЕРОтест 16 - расположена по адресу [www.erbalachema.com](http://www.erbalachema.com) (раздел Микробиология)
- Программа идентификации ErbaExpert

**Примечание:** В случае оценки идентификации при помощи Книги кодов для определения цифрового кода - профиля необходимо знать результаты теста ОНПтест.

**Внимание:**

Набор ЭНТЕРОтест 16 предназначен только для профессионального использования. Тест должен быть использован только по назначению специально подготовленным персоналом в соответствии с общепринятыми нормами и правилами работы с инфекционным материалом, установленными в лаборатории.

**СТРОГО СОБЛЮДАТЬ ПРАВИЛА РАБОТЫ С ИНФИЦИРОВАННЫМ МАТЕРИАЛОМ!**

**Выделение культуры:**

- Выделите чистую культуру, пользуясь общепринятыми в микробиологии методами на рекомендованной среде (кровавый агар).
- Поставьте тест на ферментацию глюкозы для установления факта принадлежности выделенной культуры к группе ферментирующих микроорганизмов (ОФтест).
- Поставьте тест на выявление цитохромоксидазы с помощью полосок ОКСИтест для выявления оксидазоположительных микроорганизмов из родов *Aeromonas*, *Plesiomonas* и *Vibrio*.

**Приготовление бактериальной суспензии:**

- Из чистой 24 часовой культуры грамотрицательных палочек на агаре Эндо или MacConkey приготовьте суспензию в стерильном физиологическом растворе.
- Тщательно гомогенизируйте суспензию.
- Мутность суспензии должна соответствовать 1 степени по шкале мутности McFarland.
- Параллельно сделайте посев суспензии культуры на неселективную среду (кровавый агар) для проверки чистоты культуры, ее ростовых свойств и/или для постановки дополнительных тестов,

инкубируйте в течение 18–24 часов при температуре 35–37 °С.

## Подготовка стриппированных пластинок:

- Подготовьте рамку с крышкой.
- Откройте алюминиевую упаковку по сварному шву.
- Достаньте пластинку из алюминиевого пакета. В том случае, если Вы работаете с набором Микро-Ла-Тест® впервые, и у Вас нет свободной рамки, используйте рамку первой пластинки. Неиспользованные стрипы из первой пластинки поместите в пакет для хранения неиспользованных пластинок.
- Возьмите необходимое количество стрипов из пластинки (1 двухрядный стрип содержит 16 тестов на одну культуру).
- Удалите адгезивную пленку с индивидуальных стрипов, вставьте их в подготовленную рамку.
- Не ставьте стрипы близко друг к другу во избежание воздействия реакций от соседних культур.
- Напишите номера штаммов на соответствующие стрипы.
- Остаток неиспользованных стрипов с силикагелем поместите в алюминиевый пакет для частично использованных пластинок и положите в холодильник для последующего использования; пластинку необходимо предохранять от влаги. Не рекомендуется хранить пластинку более 4 недель с момента ее вскрытия.
- Рамку с крышкой дезинфицируйте после каждого употребления.

## Инокуляция:

- Суспензию бактерий тщательно встряхните.
- Инокулируйте по 0,1 мл суспензии во все лунки соответствующих рядов (т.е. 16 лунок).
- Исключите возможность заражения соседних лунок.
- После инокуляции в лунки H, G, F, E, D 1 ряда (тесты сероводород, лизин, индол, орнитин, уреазы) добавьте по 2 капли стерильного парафинового масла.
- Инокуляция ОНПтеста: поместите полоску с ОНПтестом стерильным пинцетом в пробирку с исходной суспензией (объем 0,5–0,6 мл)

### Примечание:

Крышка пластинки имеет сокращенные названия тестов и символы:

- добавить (парафиновое масло) и ∂ (реактив)

Если Вы используете крышку для накрытия пластинки, продезинфицируйте ее внутреннюю сторону спиртом.

- Для уточнения идентификации группы *Klebsiella* / *Enterobacter* / *Serratia* проведите ВПтест (см. инструкцию для ВПтеста).

## Инкубация:

- Вложите пластинку в пакет из полиэтилена, открытый конец пакета загните под пластинку, чтобы инокулят не высыхал при инкубации.
- Инкубируйте инокулированную пластинку и полоску ОНПтеста в течение 18–24 часов при температуре 35–37 °С.

## Учет результата:

- Проверьте рост и чистоту культуры на контрольной чашке. При отсутствии роста увеличьте время инкубации еще на 24 часа.
- Добавьте реактивы по 1 капле в следующие лунки:  
Лунки F 1 ряд (тест IND) – Реактив для теста ИНДОЛ – 2 капли.  
Лунки C 1 ряд (тест РНЕ) – Реактив для теста ФЕНИЛАЛАНИН – 1 каплю.
- Немедленно учтите реакцию на фенилаланин – цвет положительной реакции может исчезнуть через 2 минуты
- Учтите результаты всех реакций и занесите в бланки.

### Внимание:

- При оценке ЭНТЕРОтест 16 ориентируйтесь по цветным реакциям контрольных штаммов, Цветной шкале сравнения и/или по таблице «Интерпретация реакций».

## Идентификация:

- Идентификацию проводите с помощью «Идентификационной таблицы», Книги кодов или компьютерной программы ErbaExpert
- При окончательной идентификации следует учитывать всю дополнительную информацию (микроскопию, характер колоний, наличие пигмента, источник выделения, дополнительные тесты и т.д.).
- В случае выделения сальмонелл и шигелл подтвердите идентификацию серологически.
- Если культуру не удается идентифицировать рекомендуется повторить ЭНТЕРОтест 16.

## Примечание:

- Для идентификации при помощи Книги кодов, бланк для регистрации результатов позволяет легко получить так называемый профиль, т.е. цифровой код, по которому можно найти результат идентификации в Книге кодов. Расчет профиля описан в Книге кодов.

## Наиболее частые причины неудач при идентификации:

- Смешанная культура.
- Использование суспензий с недостаточной мутностью или в недостаточном объеме.
- Перекрестная контаминация суспензий в расположенных рядом лунках.
- Лунки с тестами на сероводород, лизин, индол, орнитин, уреазу не заполнены парафиновым маслом.
- Не точно соблюдена методика постановки теста.
- Попадание реактивов в лунки соседнего ряда.
- Возможно выделение штамма с нетипичными свойствами или его данные не заложены в таблицы.

## Дезинфекция:

После употребления микротестсистемы обеззараживаются в дезинфицирующем растворе либо автоклавируются.

Бумажную упаковку сдайте в макулатуру.

## Свойства:

Набор был протестирован на 150 штаммах.

40% было правильно идентифицировано до рода, 44% было правильно идентифицировано до вида, 11% было идентифицировано как «интермедиальный штамм», 5% не было идентифицировано.

## Контроль качества:

Химический контроль качества реактивов, используемых при производстве ЭНТЕРОтест 16, осуществляется стандартными методами. производственные партии пластинок контролируются с помощью контрольных референтных бактериальных культур.

## Контрольные штаммы:

CCM 303 *Serratia marcescens subsp. marcescens* (ATCC 13880)  
 CCM 1799 *Proteus sp.*  
 CCM 2238 *Edwardsiella tarda* (ATCC 15947)  
 CCM 2531 *Enterobacter aerogenes*

Реакции контрольных штаммов показаны в таблице:

### Контрольные штаммы

CCM No.	Ряд 1								Ряд 2							
	H <sub>2</sub> S	G LYS	F IND	E ORN	D URE	C PHE	B ESL	A SCI	H MAL	G INO	F ADO	E CEL	D SUC	C SOR	B TRE	A MAN
303	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
1799	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
2238	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2531	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

## Пояснения:

+ = положительная реакция    - = отрицательная реакция    s = слабая реакция

CCM – Чешская коллекция микроорганизмов

ГИСК, Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича, г. Москва, телефон 8 (499) 241-31-19

## Предупреждение:

Для контроля функциональности набора необходимо всегда использовать свежие изоляты штаммов CCM. Данные штаммы служат для контроля функциональности набора, но не для контроля идентификации.

### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕАКЦИЙ

Колонка	Тест	Код	Реакция	
			положительная	отрицательная
Ряд 1				
H	Сероводород	H <sub>2</sub> S	черная, темно-серая	бесцветная, светло-серая
G	Лизин	LYS	синяя, сине-зеленая	зеленая, желто-зеленая
F	Индол	IND	красно-фиолетовая, красная, розовая	желтая
E	Орнитин	ORN	синяя, сине-зеленая	зеленая, желто-зеленая
D	Уреаза	URE	красная, оранжево-красная	желтая, бледно-оранжевая
C	Фенилаланин	PHE	темно-зеленая, зеленая	желтая, желто-коричневая
B	Эскулин	ESL	черная, темно-коричневая, темно-серая	бесцветная, бледно-серая, бледно-коричневая
A	Цитрат Симмонса	SCI	синяя, сине-зеленая	зеленая
Ряд 2				
H	Малонат	MAL	синяя, сине-зеленая	зеленая
G	Инозит	INO	желтая, желто-зеленая	зеленая
F	Адонит	ADO	желтая, желто-зеленая	зеленая
E	Целлобиоза	CEL	желтая, желто-зеленая	зеленая
D	Сахароза	SUC	желтая, желто-зеленая	зеленая
C	Сорбитол	SOR	желтая, желто-зеленая	зеленая
B	Трегалоза	TRE	желтая, желто-зеленая	зеленая
A	Маннитол	MAN	желтая, желто-зеленая	зеленая
ОКСИтест	Оксидаза		синяя	бесцветная
ОНПтест	β-галактозидаза		желтая, бледно-желтая	бесцветная
VPтест	Ацетоин		красная, розовая	бесцветная, бледно-розовая

ONP	Ряд 1									Ряд 2								VPT
	H H <sub>2</sub> S	G LYS	F IND	E ORN	D URE	C PHE	B ESL	A SCI	H MAL	G INO	F ADO	E CEL	D SUC	C SOR	B TRE	A MAN		
+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella arizonae	-
+	(+)	-	-	(-)	d	-	-	+	(-)	-	-	d	d	+	+	+	Citrobacter freundii	-
+	-	+	+	-	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Klebsiella oxytoca	+
+	-	+	d	d	-	-	d	+	-	+	d	+	d	+	+	+	Serratia odorifera	d
+	-	+	-	+	(-)	-	+	+	-	(+)	d	-	+	+	+	+	Serratia marcescens (a)	+
+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Enterobacter aerogenes	+
+	-	+	-	+	-	-	d	+	-	-	-	+	-	-	+	+	Yokenella regensburgei	-
+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	Klebsiella pneumoniae (b)	+
+	-	(+)	+	d	-	-	d	-	-	-	-	-	d	+	+	+	Escherichia coli	-
+	-	(+)	-	-	-	-	(-)	-	(+)	-	-	+	-	-	+	+	Escherichia vulneris	-
+	-	d	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	d	+	+	Kluyvera ascorbata	-
+	-	d	-	-	-	-	+	+	+	d	+	+	+	-	+	+	Serratia rubidaea	+
+	-	-	+	+	d	-	-	+	(+)	(-)	+	+	d	+	+	+	Citrobacter koseri	-
+	-	-	+	+	d	-	-	d	-	-	-	+	(-)	+	+	+	Citrobacter amalonaticus	-
+	-	-	+	+	-	-	d	-	-	-	-	+	d	-	+	+	Escherichia hermannii	-
+	-	-	+	-	d	-	+	-	+	-	+	+	d	-	+	+	Leclercia adecarboxylata	-
+	-	-	d	+	d	-	d	-	-	d	-	d	+	+	+	+	Yersinia enterocolitica (c)	-
+	-	-	(-)	+	-	(-)	+	+	(-)	d	-	+	+	-	+	+	Enterobacter sakazakii	+
+	-	-	-	+	d	-	d	+	d	(-)	d	+	+	+	+	+	Enterobacter cloacae	+
+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Shigella sonnei	-
+	-	-	-	d	-	d	+	d	+	-	-	d	+	-	+	+	Pantoea agglomerans	+
+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	d	d	+	+	+	+	+	Serratia ficaria (d)	(+)
(+)	-	+	+	+	-	-	d	(-)	d	-	+	+	-	-	+	+	Escherichia fergusonii	-
(+)	-	+	-	+	-	-	-	(-)	d	-	-	(-)	(-)	-	+	+	Hafnia alvei	(+)
(+)	-	d	-	-	(-)	-	(+)	d	-	d	+	+	(-)	d	+	+	Klebsiella ozaenae	-
d	-	-	d	+	d	-	-	-	-	(-)	-	+	-	+	+	+	Yersinia kristensenii	-
d	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	-	d	+	+	+	+	Yersinia rohdei	-
d	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Yersinia pseudotuberculosis	-
-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Edwardsiella tarda	-
-	+	+	-	+	-	-	-	(+)	-	d	-	-	-	+	+	+	Salmonella enteritidis (e)	-
-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella typhi	-
-	+	-	+	-	+	+	d	(-)	-	-	-	-	+	-	d	-	Proteus vulgaris	-
-	+	-	-	+	+	+	-	d	-	-	-	-	(-)	-	+	-	Proteus mirabilis	d
-	d	+	-	+	-	-	-	d	-	-	-	-	-	(+)	-	+	Salmonella choleraesuis	-
-	d	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	d	-	Proteus penneri	-
-	-	d	+	d	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Morganella morganii subsp. morganii	-
-	-	d	(+)	(+)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Morganella morganii subsp. sibonii	-
-	-	-	+	-	+	+	d	+	-	(+)	+	-	(-)	-	-	+	Providencia rettgeri	-
(-)	-	-	+	-	d	+	-	+	-	+	-	-	d	-	+	-	Providencia stuartii	-
-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	(-)	-	-	-	Providencia alcalifaciens	-
-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	d	+	Shigella boydii, S. flexneri	-
-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella paratyphi A.	-
-	-	-	-	-	-	-	d	-	+	+	+	+	d	+	+	+	Klebsiella rhinoscleromatis	-

Пояснения:

- (a) .....похожие реакции: *S. liquefaciens* + .....90–100% положительных реакций
- (b) .....похожие реакции: *R. planticola* (+) .....80– 90% положительных реакций
- (c) .....похожие реакции: *Y. intermedia*, *Y. bercovieri*, *Y. mollaretii* d .....20– 80% положительных реакций
- (d) .....похожие реакции: *S. plymuthica* (-) .....10– 20% положительных реакций
- (e) .....похожие реакции: *S. plymuthicum* - .....0– 10% положительных реакций

Примечание: *Citrobacter koseri* – раньше *C. diversus*

Меры предосторожности: Набор реагентов не относится к категории опасных.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ

Номер каталога   
 Ин витро диагностика   
 Производитель   
 Перед использованием Внимательно изучайте инструкции  
 Номер партии   
 Температура хранения   
 Срок годности   
 Национальный знак соответствия для Украины

Дата проведения контроля: 31.1. 2018



Nr. katalogowy: MLT00005

**Dla mikrobiologii**

Zestaw ENTEROtest 16 służy do rutynowej identyfikacji ważnych gatunków bakterii jelitowych z rodziny *Enterobacteriaceae*. Zestaw umożliwia przeprowadzenie identyfikacji sześćdziesięciu szczepów, każdy za pomocą szesnastu testów biochemicznych. Testy rozmieszczone są w studzienkach mikroplytki, zawsze dwa rzędy z ośmioma studzienkami. Identyfikację można uzupełnić testami do wykrywania oksydazy cytochromowej (OXItest), β-galaktozydazy (ONPtest), β-glukuronidazy (COLItest) oraz acetoiny (VPtest), dostarczonymi w postaci pasków diagnostycznych. Testy paskowe dostarczane są osobno.

**Zestaw ENTEROtest 16 zawiera:**

- 10 mikroplytek (każda do identyfikacji 6 szczepów) z wysuszaczem
- Instrukcję obsługi wraz z tabelą identyfikacyjną
- Porównawczą skalę barw dla ENTEROtest 16
- 60 formularzy do wpisywania wyników
- 10 PE torebek do inkubacji
- Torebkę do przechowywania przeznaczoną do ułożenia niezużytej reszty płytki, 1szt.
- Pokrywę do ramki

**Przechowywanie, data ważności:**

- Zestaw ENTEROtest 16 należy przechowywać w temperaturze (+2 do +8 °C). Termin ważności podany jest na każdym opakowaniu.

**Zalecany sposób postępowania dla ENTEROtest 16**

**Materiały potrzebne do pracy z zestawem ENTEROtest 16, które nie wchodzi w skład zestawu:**

- Odczynnik do testu INDOL (nr kat. MLT00020 – 630 ozn./ op.)
- Odczynnik do testu FENYLOALANINA (nr kat. MLT00017 – 230 ozn./ op.)
- Sterylny olej parafinowy (nr kat. MLT00042 – 150 ozn./ op.)
- ONPtest (nr kat. MLT00038 – 50 ozn./op.)
- Probówki (100x15) mm z 2,2 ml sterylnego roztworu soli fizjologicznej
- Urządzenie DENSILAMETER II (nr kat. INS00062)
- Vortex V1 (nr kat. 50001715)
- Pipeta do dozowania 0,1 ml, sterylne końcówki
- Płytki Petriego z agarem krwawym
- Ciepłarka 37 °C
- Podstawowe wyposażenie laboratorium mikrobiologicznego (ezy, markery, palnik, itd.)

**Materiały potrzebne do pracy z testami uzupełniającymi, które nie wchodzi w skład zestawu:**

- OXItest (nr kat. MLT00039 – 50 ozn./ op.)
- Odczynnik do testu OXIDAZA (nr kat. MLT00022 – 250 ozn./ op.)
- COLItest (nr kat. MLT00035 – 50 ozn./ op.)
- Odczynnik do testu INDOL (nr kat. MLT00020 – 120 ozn./ op.)
- Lampa UV (nr kat. 50001471)
- VPtest (nr kat. MLT00041 – 50 ozn./ op.)
- Odczynnik do testu ACETOIN (nr kat. MLT00016 – 90 ozn./ op.)

**Niezbędne pomoce identyfikacyjne, które nie wchodzi w skład zestawu:**

- Książka kodów do ENTEROtest 16 - znajduje się na stronie [www.erbalachema.com](http://www.erbalachema.com) (sekcja poświęcona mikrobiologii)
- Program identyfikacyjny ErbaExpert

**Uwaga:** W przypadku oceny identyfikacji za pomocą Książki kodów dla obliczenia kodu cyfrowego – profilu niezbędna jest znajomość wyniku testu ONPtest.

**Uwaga:**

- Zestaw przeznaczony jest do profesjonalnego zastosowania.

**Przestrzegaj zasad pracy z materiałem zakaźnym!**

**Izolacja kolonii:**

- Należy wykonać standardowym sposobem na zalecanych podłożach.  
**Uwaga:** przynależność kolonii do bakterii jelitowych potwierdzić testem na fermentację glukozy (OFtest)  
Celem wykluczenia gatunków z rodzajów *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Vibrio* należy przeprowadzić na agarze z krwią test na oksydazę cytochromową (OXItest).

**Przygotowanie inokulum:**

- Z czystej 24 godzinnej hodowli przygotować zawiesinę w sterylnym roztworze soli fizjologicznej.
- Zawiesinę należy dokładnie zhomogenizować, gęstość zawiesiny powinna odpowiadać 1 stopniowi skali McFarlanda.

**Kontrola czystości inokulum:**

- W przypadku potrzeby, należy za pomocą ezy, którą przygotowano zawiesinę, dokonać wysiewu krzyżowego celem potwierdzenia czystości inokulum. Inkubować w temp. 37 °C. Czystość kultury sprawdzić po upływie 24 godzin.

**Przygotowanie płytki zestawu ENTEROtest 16:**

- Otworzyć ALU torebkę poprzez odcięcie brzegu torebki obok miejsca spawu oraz wyjąć płytkę.
- Przy pomocy skalpela należy odciąć odpowiednią ilość pasków płytki, zgodnie z ilością badanych szczepów (2 rzędy, tj. 2x8 studzienek do identyfikacji jednego szczepu).
- Odcięte paski należy wyjąć z panelu, zdjąć ochronną ALU folię, paski włożyć do przygotowanej pustej ramki. W przypadku pracy z zestawem MIKROLATEST® po raz pierwszy i niedysponowaniem wolną ramką, należy wyjąć niezużyte studzienki z pierwszej pełnej ramki, ułożyć luzem w torebce do przechowywania a ramkę tej pierwszej płytki wykorzystać do inkubacji.
- Wpisać nr badanych kultur na odpowiednie paski
- Resztę niezużytej płytki z wysuszaczem włożyć do dołączonej torebki do przechowywania i całość następnie włożyć do lodówki do kolejnego użycia; płytkę należy chronić przed wilgocią. Zalecamy użyć płytkę do 4 tygodni od pierwszego zastosowania.



## Inokulacja:

- Zawiesinę bakteryjną należy przed użyciem dokładnie wymieszać.
- Inokulować 0.1 ml zawiesiny do każdej z 16 studzienek.
- Należy uważać, żeby w trakcie inokulacji nie kontaminować sąsiednich studzienek.
- Do testów siarkowódór, lizyna, indol, ornityna, mocznik należy po inokulacji dodać 2 krople sterylnego oleju parafinowego.
- Do probówki z resztą zawiesiny bakteryjnej (cca. 0,6 ml) należy włożyć test paskowy do wykrywania hydrolizy ONPG (ONPtest), probówkę zamknąć korkiem.
- Dla dokładniejszej identyfikacji w przypadku rodzajów *Klebsiella* / *Enterobacter* / *Serratia* można przeprowadzić VPtest.
- Dla wykrycia  $\beta$ -glukuronidazowej aktywności w przypadku podejrzanych kolonii posiać COLtest. Przeprowadzając ONPtest, COLtest ewentualnie VPtest należy postępować zgodnie z instrukcjami obsługi do wymienionych testów.

**Uwaga:** Pokrywa ramki płytki zawiera nadruk skrótów testów i symboli:

- (zakropić olejem parafinowym) i  $\Delta$  (dodać odczynnik).

W przypadku wykorzystywania pokrywy w trakcie pracy do nakrycia płytki, należy przed zastosowaniem wewnętrzną stronę pokrywy zdezynfekować etanolem.

## Inkubacja:

- Płytkę z badanymi testami należy włożyć do PE torebki.
- Torebkę należy zamknąć zakładając jej koniec pod płytkę, żeby zapobiec wysychaniu inokulum.
- Probówki z resztą inokulum i testem do wykrycia hydrolizy ONPG (ewentualnie COLtest lub VPtest) zostawić w statywie.
- ENTEROtest 16 oraz probówki z ONPtestem należy inkubować 18-24 godzin w temperaturze 35–37 °C.

## Ocena:

- Ocenę ENTEROtestu 16 należy przeprowadzić według Porównawczej skali barw, według tabeli „Interpretacja reakcji” w instrukcji obsługi lub według reakcji barwnych szczepów kontrolnych.
- Po 18–24 h inkubacji dodać 1 kropelkę odczynnika do testu INDOL oraz 1 kropelkę odczynnika do testu FENYLOALANINA do odpowiednich studzienek. Należy zapobiegać kontaminacji sąsiednich studzienek (możliwość fałszywych reakcji)
- Natychmiast należy odczytać test na fenyloalaninę (dodatni wynik reakcji znika po 2 minutach po zakropleniu odczynnika).
- Odczytać pozostałe testy ENTEROtest 16 oraz wyniki reakcji zachodzących na testach paskowych, wyniki wpisać do formularza.
- Należy zapobiegać kontaminacji sąsiednich studzienek (możliwość fałszywych reakcji).

## Identyfikacja:

- Podsumowanie oceny identyfikacji przeprowadzić według książki kodów lub według programu identyfikacyjnego ErbaExpert.
- Podczas identyfikacji należy brać pod uwagę charakter kolonii, pigmentację, obraz mikroskopowy, dodatkowe testy, źródło izolacji itd.
- Identyfikację bakterii rodzajów *Salmonella* i *Shigella* potwierdzić serologicznie.
- W przypadku nieudanej identyfikacji należy powtórzyć ENTEROtest 16, ewentualnie uzupełnić identyfikację konwencjonalnymi testami.

## Najczęstsze przyczyny nieudanej identyfikacji:

- kontaminowana kultura
- użycie inokulum o małej objętości, lub inokulum o nieprawidłowej gęstości
- możliwość zanieczyszczenia sąsiednich studzienek podczas inokulacji
- brak zakropienia odpowiednich testów olejem parafinowym
- zanieczyszczenie sąsiedniego rzędu odczynnikami podczas oceny
- nieprzestrzeganie zalecanego sposobu postępowania
- pojawienie się szczepów nietypowych, które nie są podane w tabeli identyfikacyjnej

## Likwidacja zużytych materiałów:

- Po zużyciu należy włożyć płytki do pojemników dla materiału zakaźnego i autoklawować lub zniszczyć (spalić).
- Puste papierowe opakowania należy przekazać do recyklingu.

## Właściwości zestawu:

Zestaw został przetestowany za pomocą 150 szczepów.

40 % zidentyfikowano prawidłowo na poziomie gatunku, 44 % zidentyfikowano prawidłowo na poziomie rodzaju, 11% zidentyfikowano jako „szczep intermediarny”, 5 % zidentyfikowano nieprawidłowo.

## Kontrola jakości testów:

Jakość chemikaliów stosowanych do produkcji płytek ENTEROtest 16 sprawdzana jest przy użyciu standardowego sposobu testowania. Wyprodukowane partie płytek sprawdzane są także za pomocą standardowych referencyjnych kultur bakteryjnych. Także w celach rutynowej diagnostyki zalecamy zastosowanie tych standardowych szczepów kontrolnych do sprawdzenia prawidłowości sposobu postępowania, przebiegu testów i wyrażenia reakcji barwnych. Użycie szczepów kontrolnych zalecane jest w przypadku każdej serii nieznanymi szczepów, w przypadku każdej nowej serii zestawu oraz zgodnie z systemem walidacji laboratorium.

### Wyniki testów szczepów kontrolnych w ENTEROtest 16

CCM No.	Rząd 1								Rząd 2							
	H H <sub>2</sub> S	G LYS	F IND	E ORN	D URE	C PHE	B ESL	A SCI	H MAL	G INO	F ADO	E CEL	D SUC	C SOR	B TRE	A MAN
303	-	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
1799	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
2238	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2531	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Objaśnienia:**  
+ reakcja dodatnia  
- reakcja ujemna  
s słaba reakcja dodatnia

CCM 303 *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* (ATCC 13880)

CCM 1799 *Proteus* sp.

CCM 2238 *Edwardsiella tarda* (ATCC 15947)

CCM 2531 *Enterobacter aerogenes*

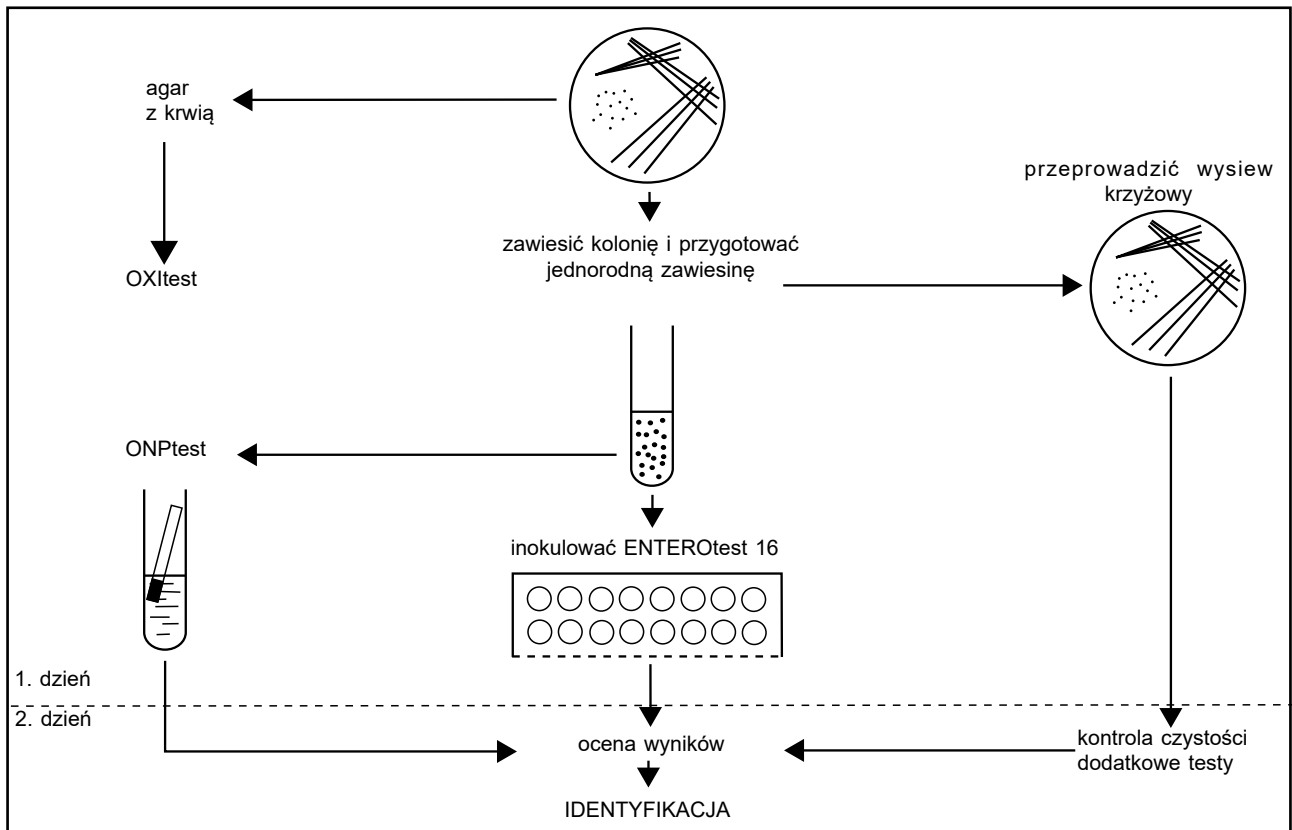
Szczepy dostarczane są w postaci liofilizowanej lub na krążkach żelatynowych przez CCM – Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Faculty of Science, Kamenice 5, building A25, 625 00 Brno, CZ, tel. 549 491 430, fax 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: [ccm@sci.muni.cz](mailto:ccm@sci.muni.cz)

**Uwaga:** Do kontroli prawidłowego funkcjonowania zestawu należy stosować zawsze świeżo izolowane szczepy CCM. **Szczepy te przeznaczone są do kontroli funkcjonowania zestawu, natomiast nie służą do kontroli prawidłowości lub powodzenia identyfikacji.**

**INTERPRETACJA REAKCJI**

Kolumna	Test	Skrót testu	Reakcja	
			dotatnia	ujemna
<b>Rząd 1</b>				
H	siarkowodor	H <sub>2</sub> S	czarna, ciemnoszara	bezbarwna, białoszara
G	lizyna	LYS	niebieska, niebieskozielona	zielona, żółtozielona
F	indol	IND	czerwonofioletowa, różowa	żółta
E	ornityna	ORN	niebieska, niebieskozielona	zielona, żółtozielona
D	mocznik	URE	czerwona, pomarańczowoczerwona	żółta, białopomarańczowa
C	fenyloalanina	PHE	ciemnozielona, zielona	żółta, żółtobrązowa
B	eskulina	ESL	czarna, ciemnobrązowa, ciemnoszara	bezbarwna, białoszara, białobrązowa
A	cytrynian Simmonsa	SCI	niebieska, niebieskozielona	zielona
<b>Rząd 2</b>				
H	malonian	MAL	niebieska, niebieskozielona	zielona
G	inozytol	INO	żółta, żółtozielona	zielona
F	adonitol	ADO	żółta, żółtozielona	zielona
E	celobioza	CEL	żółta, żółtozielona	zielona
D	sacharoza	SUC	żółta, żółtozielona	zielona
C	sorbitol	SOR	żółta, żółtozielona	zielona
B	trehaloza	TRE	żółta, żółtozielona	zielona
A	mannitol	MAN	żółta, żółtozielona	zielona
OXItest	oksydaza		niebieska	bezbarwna
ONPtest	beta-galaktozydaza		żółta, bladożółta	bezbarwna
COLtest	beta-glukuronidaza		fluorescencja	brak fluorescencji
VPtest	acetoina		czerwona, różowa	bezbarwna, białoróżowa

**SPOSÓB POSTĘPOWANIA**



IDENTYFIKACJA ISTOTNYCH KLINICZNIE BAKTERII Z RODZINY ENTEROBACTERIACEAE

ONP	Rząd 1									Rząd 2							VPT	
	H H <sub>2</sub> S	G LYS	F IND	E ORN	D URE	C PHE	B ESL	A SCI	H MAL	G INO	F ADO	E CEL	D SUC	C SOR	B TRE	A MAN		
+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella arizonae	-
+	(+)	-	-	(-)	d	-	-	+	(-)	-	-	d	d	+	+	+	Citrobacter freundii	-
+	-	+	+	-	d	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Klebsiella oxytoca	+
+	-	+	d	d	-	-	d	+	-	+	d	+	d	+	+	+	Serratia odorifera	d
+	-	+	-	+	(-)	-	+	+	-	(+)	d	-	+	+	+	+	Serratia marcescens (a)	+
+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Enterobacter aerogenes	+
+	-	+	-	+	-	-	d	+	-	-	-	+	-	-	+	+	Yokenella regensburgei	-
+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	(+)	+	+	+	+	+	Klebsiella pneumoniae (b)	+
+	-	(+)	+	d	-	-	d	-	-	-	-	d	+	+	+	+	Escherichia coli	-
+	-	(+)	-	-	-	-	(-)	-	(+)	-	-	+	-	-	+	+	Escherichia vulneris	-
+	-	d	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	d	+	+	Kluyvera ascorbata	-
+	-	d	-	-	-	-	+	+	+	d	+	+	+	-	+	+	Serratia rubidaea	+
+	-	-	+	+	d	-	-	+	(+)	(-)	+	+	d	+	+	+	Citrobacter koseri	-
+	-	-	+	+	d	-	-	d	-	-	-	+	(-)	+	+	+	Citrobacter amalonaticus	-
+	-	-	+	+	-	-	d	-	-	-	-	+	d	-	+	+	Escherichia hermannii	-
+	-	-	+	-	d	-	+	-	+	-	+	+	d	-	+	+	Leclercia adecarboxylata	-
+	-	-	d	+	d	-	d	-	-	d	-	d	+	+	+	+	Yersinia enterocolitica (c)	-
+	-	-	(-)	+	-	(-)	+	+	(-)	d	-	+	+	-	+	+	Enterobacter sakazakii	+
+	-	-	-	+	d	-	d	+	d	(-)	d	+	+	+	+	+	Enterobacter cloacae	+
+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Shigella sonnei	-
+	-	-	-	d	-	-	+	d	+	-	-	d	+	-	+	+	Pantoea agglomerans	+
+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	d	d	+	+	+	+	Serratia ficaria (d)	(+)
(+)	-	+	+	+	-	-	d	(-)	d	-	+	+	-	-	+	+	Escherichia fergusonii	-
(+)	-	+	-	+	-	-	-	(-)	d	-	-	(-)	(-)	-	+	+	Hafnia alvei	(+)
(+)	-	d	-	-	(-)	-	(+)	d	-	d	+	+	(-)	d	+	+	Klebsiella ozaenae	-
d	-	-	d	+	d	-	-	-	-	(-)	-	+	-	+	+	+	Yersinia kristensenii	-
d	-	-	-	d	d	-	-	-	-	-	-	d	+	+	+	+	Yersinia rohdei	-
d	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Yersinia pseudotuberculosis	-
-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Edwardsiella tarda	-
-	+	+	-	+	-	-	-	(+)	-	d	-	-	-	+	+	+	Salmonella enteritidis (e)	-
-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella typhi	-
-	+	-	+	-	+	+	d	(-)	-	-	-	-	+	-	d	-	Proteus vulgaris	-
-	+	-	-	+	+	+	-	d	-	-	-	-	(-)	-	+	-	Proteus mirabilis	d
-	d	+	-	+	-	-	-	d	-	-	-	-	-	(+)	-	+	Salmonella choleraesuis	-
-	d	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	d	-	Proteus penneri	-
-	-	d	+	d	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Morganella morganii subsp. morganii	-
-	-	d	(+)	(+)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	Morganella morganii subsp. sibonii	-
-	-	-	+	-	+	+	d	+	-	(+)	+	-	(-)	-	-	+	Providencia rettgeri	-
(-)	-	-	+	-	d	+	-	+	-	+	-	-	d	-	+	-	Providencia stuartii	-
-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	(-)	-	-	-	Providencia alcalifaciens	-
-	-	-	d	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	d	+	Shigella boydii, S. flexneri	-
-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	Salmonella paratyphi A.	-
-	-	-	-	-	-	-	d	-	+	+	+	+	d	+	+	+	Klebsiella rhinoscleromatis	-

- (a).....identyczne wyniki jak u *S. liquefaciens* + .....90–100% dodatnich reakcji
- (b).....identyczne wyniki jak u *R. planticola* (+).....80– 90% dodatnich reakcji
- (c).....identyczne wyniki jak u *Y. intermedia, Y. bercovieri, Y. mollahetii* d .....20– 80% dodatnich reakcji
- (d).....identyczne wyniki jak u *S. plymuthica* (-).....10– 20% dodatnich reakcji
- (e).....identyczne wyniki jak u *S. typhimurim* - ..... 0– 10% dodatnich reakcji
- (f) .....Farmer, J. J., III., and Kelly, M. T.1991: *Enterobacteriaceae*, pp. 360-395  
In: Balows, A. et al. (Ed. by), *Manual of Clinical Microbiology*, ASM, Washington, D. C.  
Pozn.: *Citrobacter koseri* – poprzednio *Citrobacter diversus*

**Ochrona zdrowia:** Odczynniki zestawu nie są klasyfikowane jako niebezpieczne.

**Przedstawicielstwo w Polsce:**  
ERBA POLSKA Sp. z o.o., ul. ŚW. FILIPA 23/4, KRAKÓW, 31-150, Polska, tel. kom. +48 510 251 115, e-mail: tvrdon@erbamannheim.com, www.erbamannheim.com, diagnostics@erbamannheim.com.

UŻYTE SYMBOLE

Numer Katalogowy    
 Urządzenie Diagnostyczne in Vitro    
 Producent    
 Patrz: Instrukcja Użycia  
 Numer Partii    
 Temperatury Graniczne    
 Termin Ważności

Data rewizji: 31.1. 2018

10003376