

Návod k použití pro tablety Diatabs™

Diatabs™

Pro identifikaci bakterií

Výrobce:

ROSCO Diagnostica A/S, Taastrupgaardsvej 30, DK-2630 Taastrup, Denmark, www.rosco.dk

ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Pro použití při kvalitativních postupech určených k detekci *in vitro* mikrobiálních charakteristik pro identifikaci mikroorganismů. Identifikační testy jsou dostupné jako jednotlivé tablety.

PRINCIP METODY

Diatabs mohou být rozděleny do dvou skupin. Tablety, které se umisťují na agarovou plotnu a tablety, které se rozpouštějí v tekutině. Většina Diatabs tablet poskytuje rapid testy s použitím chromogenních enzymatických reakcí a modifikovaných konvenčních testů. Diatabs umístěné na agarových plotnách detekují přirozené modely citlivosti nebo požadavky na růstové faktory. Po inkubaci se misky prohlédnou a změří se průměr inhibičních zón okolo tablety, které se porovnají s interpretační tabulkou (citlivý/rezistentní) pro jednotlivé tablety.

Diatabs tablety používané v tekutině jsou založeny na enzymatických vlastnostech mikroorganismů detekovaných různými indikátorovými systémy¹.

Více informací o Diatabs tabletách pro identifikaci bakterií lze získat z uživatelského manuálu Diatabs² na www.rosco.uk.

NÁVOD K UCHOVÁVÁNÍ

- 1) Po obdržení zkontrolujte teplotní symbol na nálepce. Diatabs se symbolem 2-8 °C je třeba uchovávat v chladničce a Diatabs s limitem teploty 25 °C uvedeným na štítku je třeba uchovávat při pokojové teplotě.
- 2) Pokud Diatabs uchováváte v chladničce, před otevřením nechte nádobku vytemperovat na pokojovou teplotu tj. 30-60 min, čímž zabráníte kondenzaci na tabletách.
- 3) Uchovávejte Diatabs tablety v lahvičkách dobře chráněných před přímým světlem a vysokou vlhkostí. Pokud je to možné, dejte do lahvičky s tabletami kapsli s desikantem.

Datum expirace na lahvičkách je platné pouze v případě, pokud jsou lahvičky uchovávány uzavřené a při doporučené teplotě.

REAGENCIE

Diatabs jsou tablety o velikosti 6 nebo 9 mm zasílané v lahvičkách po 15, 25 nebo 50 tabletách. Tablety o velikosti 9 mm jsou potištěny kódem na obou stranách s unikátním 5místným kódem. Tablety o velikosti 6 mm používané na agaru jsou značeny barevně a Diatabs pro rozpuštění ve vodě nemají žádný kód. Uživatel by měl sledovat obsah zkumavky, pokud používá více než jeden typ Diatabs tablet.

OPATŘENÍ

Řiďte se návodem k použití. Žádná z tablet není určena pro testování citlivosti. Provedení Diatabs nezávisí pouze na specifické Diatabs tabletě, ale také na použití správného inokula, inkubačního času a interpretaci průměru zóny nebo barevné změny. Produkt smí používat pouze vyškolený technický personál. Pro manipulaci s Diatabs používejte pinzetu. Je třeba zavést opatření proti mikrobiologickým rizikům a to vhodným sterilizováním použitých vzorků, nádob, médií a testovacích zkumavek. Diatabs, testovací zkumavky a agarové plotny s potenciálními patogeny jsou odstraněny jako mikrobiologický odpad.

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

VZOREK

Vzorek je třeba odebírat a uchovávat podle doporučených směrnic. Vzorek by měl být čistou kulturou zcela charakteristickou pro identifikovaný druh.

PRACOVNÍ POSTUP

Dodávaný materiál: Diatabs dle značení na nádobce.

Požadovaný, ale nedodávaný materiál: Kultivační média, testovací zkumavky, reagentie, kontrolní kmeny a laboratorní zařízení nutné pro provedení identifikace tj. inokulační kličky, tampony, pipety a odběrné nádoby.

I. Diatabs umístěné na agaru

Citlivost mikroorganismů izolovaných z klinických vzorků proti antibiotikům a dalším látkám může být užitečná pro jejich identifikaci. Mikroorganismy je možné charakterizovat a rozlišit pomocí měření velikosti průměru zón po inkubaci se standardizovaným inokulem naneseným na specifické agarové médium.

I. 1 Příprava inokula

Suspendujte několik morfologicky shodných kolonií z agarového (neselektivního) média inkubovaného 18-24 hodin ve 4-5 ml 0,9 % roztoku NaCl pro získání hustoty inokula odpovídajícího 0.5 standardu McFarlanda.

I.2 Inokulace

Během 15 minut ponořte sterilní tampon do suspenze a odstraňte inokulum z tamponu pevným přitisknutím proti stěně zkumavky. Během 15 minut jsou tampony použity pro inokulaci agaru specifikovaného v tabulce 1. Inokulujte suchý povrch vhodného agaru tak, že tamponem potřete celý povrch. Před nanesením Diatabs tablet na agarový povrch ho nechejte 3-5 min zaschnout (max. 15 min).

I.3 Inkubace a odečítání

Během 15 minut misky obraťte dnem vzhůru a inkubujte v závislosti na druhu a podle tabulky 1 (aerobně, anaerobně nebo v atmosféře 5-10% CO₂). Pokud v tabulce 1 není nic dalšího specifikováno, misky prohlédněte po inkubaci přes noc.

Průměry zón kompletní inhibice se měří podle toho, jak určíme hrubým odhadem podle oka. Zóny se měří k nejbližšímu celému milimetru.

Výsledky:

Srovnajte zaznamenané hodnoty průměru zón s těmi uvedenými v Tabulce 1. Výsledky pro konkrétní vzorek se hodnotí jako citlivý (S) nebo rezistentní (R) podle interpretačních zón. Pro předběžnou identifikaci bakteriálního kmenu použijte tabulku 1.

II. Diatabs používané v roztoku

II.1 Příprava inokula

Testovaný organismus by měl být v podobě čisté kultury staré 18-24 hodin. Pomalu rostoucí izoláty lze testovat pomocí 48 hodinové kultury.

Ve zkumavce připravte husté inokulum (nejméně stupeň 4 McFarland stupnice) testovaného organismu v 0,25 ml fyziologického roztoku. Pomocí jediného inokula lze inokulovat množství Diatabs tablet.

II.2 Inokulace

Přidejte Diatabs do zkumavky. Některé Diatabs tablety následně vyžadují přidat do zkumavky 3 kapky sterilního parafinového oleje (specifikováno v Tabulce 2).

II.3 Inkubace a odečítání

Uzavřete zkumavku a inkubujte při 35-37 °C po dobu 4 hodin, přes noc nebo tak, jak je specifikováno v tabulce 2.

Po inkubaci zkontrolujte vývoj zbarvení. U některých Diatabs tablet je třeba před odečtem barvy přidat nějakou reagentii, u některých se odečítají dvě reakce.

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

Po interpretaci vzniklého zbarvení přidejte reagensii a odečítejte zbarvené nové (specifikováno v Tabulce 2).

Výsledky:

Diatabs v tekutině se hodnotí barevnou reakcí. Tabulka 2 ukazuje barevné reakce pro negativní a pozitivní kmeny. Zaznamenejte výsledky testu na příslušný výsledkový formulář.

III. Diatabs a různé postupy**Oxidáza**

Položte tlustý filtrační papír do prázdné Petriho misky a dejte na něj tabletu Diatabs. Přidejte jednu kapku fyziologického roztoku na povrch tablety, počkejte 60 sekund a přidejte tam další kapku. Když je filtrační papír mokrá, pomocí plastové kličky natřete kolonii na mokrá filtrační papír, přibližně 3-8 mm od okraje tablety. Odečítejte po 2 minutách. S jednou Diatabs tabletou a stejným filtračním papírem lze vyšetřit více než jeden izolát.

Faktor X, V, a X+V

Tablety s růstovými faktory, heminem (X-faktor) a NAD (V-faktor) nebo oběma faktory, se používají pro rozlišení druhů rodu *Haemophilus*. Všechny tři tablety se umístí na agar, faktor X a faktor V do vzdálenosti 2 cm od sebe a faktor X+V dále od nich. Používejte pouze médium bez těchto dvou růstových faktorů (např. TSA agar).

Inkubujte přes noc při 35-37 °C po dobu 18-24 hodin, a všimněte se, zda v sousedství tablet je nebo není růst. Pokud organismus vyžaduje pouze faktor X, roste pouze v blízkosti tablet s faktory X a X+V, pokud vyžaduje faktor V, roste pouze v blízkosti tablet s faktory V a X+V, pokud vyžaduje přítomnost obou faktorů, roste pouze v blízkosti tablety¹ s faktory X+V.

INTERNÍ KONTROLA KVALITY

Pro monitorování správné funkčnosti tablet je třeba používat postupy pro kontrolu kvality a to s ATCC kmeny nebo známými pozitivními či negativními kmeny.

Kontrolu kvality je třeba dělat v souladu se stanovenými laboratorními postupy pro kontrolu kvality. Negativní/pozitivní barevné reakce nebo citlivé/rezistentní kmeny jsou uvedeny v tabulce a ukazují správné provedení interních postupů. Pokud se vyskytnou nesprávné výsledky kvality, není možné výsledky hlásit.

LIMITACE METODY

1. Je třeba používat pouze čistou kulturu mikroorganismů, protože smíšená bakteriální populace způsobí nesprávné výsledky.
2. Použití Diatabs tablet pro identifikaci mikroorganismů a interpretace výsledků vyžaduje personál školený v běžných mikrobiologických metodách a toho, kdo je schopen před hlášením identifikovaného izolátu kriticky využít znalostí, zkušeností, informací o vzorcích a dalších relevantních postupů.
3. Výsledky z přidaných testů mohou ovlivnit konečný výsledek identifikace.
4. Tablety nejsou určeny pro použití při testování citlivosti.
5. Přesnost Diatabs tablet je založena na znalosti *in vitro* mikrobiologických vlastností specifických klinicky významných bakteriálních druhů¹. Pokud se vyskytnou atypické nebo rozporuplné výsledky, doporučuje se test opakovat. Neočekávaný výsledek je třeba brát v úvahu při hlášení výsledků a měl by se poslat do národní referenční laboratoře pro další testování.

LITERATURA

- 1) Versalovic J et al.: Manuel of Clinical Microbiology 10th ed. 2011. ASM, Washington D.C.
- 2) Diatabs User's Guide 8th ed. 2009. www.rosco.dk

Číslo revize: DBV0008B**Datum vydání:** 12. 4. 2013

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

Tabulka 1: Interpretace výsledků Diatabs na agaru

Diatabs (aktivní látka v tabletě)	Velikost mm	Kód*	Postup	Interpretace				Kontrolní kmeny	
				Zóna mm	Citlivý	Zóna mm	Rezistentní	Citlivý	Rezistentní
Bacitracin low 0,4 U	6	BaL	Standard I Na TSA agaru	> 15	Beta-hemolytické streptokoky skupiny A	< 14	Ostatní streptokoky	<i>S. pyogenes</i> ATCC 12344	<i>S. bovis</i> ATCC 15351
Kyselina boritá 250 µg (pouze pro výzkum)	9	BORO N		Detekce plazmidem zprostředkovaných AmpC beta-laktamáz					
Briliantová zeleň 250 µg	6	BrG	Standard II	≥ 10	<i>Bacteroides</i> spp.	< 10	<i>Fusobacterium</i> spp.	<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	<i>F. necrogenes</i> ATCC 25556
C-390 40 µg	9	C-390	Standard I	≥ 12	Ostatní psudomonády a nefermentující	Bez zóny	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. maltophilia</i> ATCC 13637	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Kolistin 10 µg (sírán kolistinu)	9	Co.10	Standard II	≥ 10	Např. <i>Fusobacterium</i> spp. ^d	Bez zóny	Např. skupina <i>B. fragilis</i> ^d	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
Kloxacin 500 µg (pouze pro výzkum)	9	CL500		Detekce plazmidem zprostředkovaných AmpC beta-laktamáz					
Cykloheximid 15 µg (Cykloheximid < 0,02%)	9	CYC15	Standard I na modifikovaném Shadomy agaru	≥ 25	<i>C. glabrata</i> <i>C. krusei</i> <i>C. lusitaniae</i>	< 25	<i>C. albicans</i> <i>C. pseudotropicalis</i>	<i>C. albicans</i> ATCC 64548	<i>C. krusei</i> ATCC 6258
Deferoxamin 250 µg (deferoxamin mezylát)	9	DEFRX	Standard I ^a	≥ 16	<i>S. epidermidis</i> <i>S. hominis</i> <i>S. lutrae</i>	≤ 14	Ostatní stafylokoky	<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
Faktor V (b-nikotinamid adenin dinukleotid sodný 175 µg)	6		Viz text		<i>H. influenzae</i> : Vyžaduje oba faktory X a V Růst okolo faktoru X+V a mezi faktory X a V. <i>H. parainfluenzae</i> : Vyžaduje pouze faktor V. Roste okolo faktoru V a faktoru X+V			<i>H. influenzae</i> ATCC 49247 <i>H. parainfluenzae</i> ATCC 7901	
Faktor X (hemin chloridu 260 µg)	6								
Faktor X+V	6								
Metronidazol 5 µg	9	MTR5	Standard II	≥ 15	Anaerobní bakterie	Bez zóny	Aerobní a mikroaerofilní bakterie	<i>B. fragilis</i> ATCC 25285	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Metronidazol 50 µg	9	MTR50	Standard III	≥ 12	<i>Gardnerella vaginalis</i>	< 12	Laktobacily koryneoforní	<i>G. vaginalis</i> ATCC 14018	<i>E. coli</i> ATCC 25922

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

O/129 150 µg (2,4-diamino-6,7-diisopropyl-pteridin fosfátová sůl)	9	O/129	Standard ^b	≥ 16	<i>Vibrio</i> spp. <i>Plesiomonas</i>	< 16	<i>Aeromonas</i> <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Kocuria rhisophila</i> ATCC 9341	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Optochin 10 µg	6	OPT	Standard s TSA s 5% krví. Inkubace s nebo bez CO ₂	≥ 18 (CO ₂) ≥ 20 aero	<i>S. pneumoniae</i>	< 16 (CO ₂) < 18 aero	Ostatní nehemolyzující streptokoky	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619	<i>S. bovis</i> ATCC 15351
Oxgall 1000 µg (oxgall)	6	OXG	Standard II	> 9	Např. <i>Porphyromonas</i> spp. ^d	Bez zóny	Např. skupina <i>Bacteroides fragilis</i> ^d	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>B. fragilis</i> ATCC 25285
Ps. aeruginosa Screen 80 µg (1, 10 fenatrolin)	9	PSAE	Standard I ^c	≥ 18	Ostatní pseudomonády, nefermentující a <i>Enterobacteriaceae</i>	≤ 14	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
S.P.S 1000 g (polyanethol sulfonát sodný)	6	SPS	Standard III	≥ 10	<i>Gardnerella vaginalis</i>			<i>G. vaginalis</i> ATCC 14018	<i>Kocuria rhisophila</i> ATCC 9341
Tellur 500 µg (teluran draselný)	6	TEL	Standard I	> 15	Streptokoky a většina ostatních enterokoků	< 12	<i>E. faecalis</i>	<i>S. bovis</i> ATCC 15351	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212

* Kód napsaný tučným písmem je vytištěný na tabletách.

Postup:

Standard I: Test se provádí s inokulem odpovídajícím 0,5 McFarlanda na Mueller Hinton agaru inkubovaným aerobně při 35-37 °C přes noc pokud není agar nebo podmínky inkubace specifikovány v tabulce.

Standard II: Test se provádí s inokulem odpovídajícím 0,5 McFarlanda na FAA s krví inkubovaným anaerobně při 35-37 °C po dobu 24-48 hodin pokud není agar nebo podmínky inkubace specifikovány v tabulce.

Standard III: Test se provádí s inokulem odpovídajícím 0,5 McFarlanda na Mueller Hinton agaru s krví inkubovaným při 35-37 °C s 5-10 % CO₂ přes noc pokud není agar nebo podmínky inkubace specifikovány v tabulce.

a) Měřte zónu až ke koloniím normální velikosti, ignorujte semiinhibiční kolonie. Nepoužívejte agar s krví.

b) Používejte Oxoid Blood Agar Base s 0.5% NaCl. Inkubace po dobu 24 hodin. Při získané rezistenci proti trimetoprimu bude také rezistentní k O/129.

c) Měřte pouze jasnou zónu.

d) Lze použít pro rozdělení hlavních skupin běžných aerobních bakterií.

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

Tabulka 2: Interpretace výsledků Diatabs použitých v tekutině

Diatabs (aktivní látka v tabletě)	Kód	Postup	Inkubační doba	Interpretace		Kontrola kvality	
				Pozitivní	Negativní	Pozitivní	Negativní
Hydrolyza acetamidu (Acetamid 1.5 mg)	ACM	Standard	4 hod nebo přes noc	Červená	Žlutá, oranžová	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Adonitol (Adonitol 3 mg)	ADO	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, oranžová	žluto- Červená, oranžovo červená	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Alkalická fosfatáza (p-nitrofenyl-fosfát 0.1 mg)	Alk P	Standard	4 hod	Sytě žlutá	Bezbarvá, slabě žlutá	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. haemolyticus</i> ATCC 29970
Alfa-fukosidáza (p-nitrofenyl- α -L-fukosidáza 0.2 mg)	α -FUC	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá	Bezbarvá	<i>B. fragili</i> ATCC 25285	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Alfa-galaktosidáza (p-nitrofenyl- α -D-galaktopyranosid 0.3 mg)	α -GAL	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá	Bezbarvá	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Alfa-glukosidáza (p-nitrofenyl- α -D-Glukopyranosid 0.3 mg)	α -GLU	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá	Bezbarvá	<i>S. maltophilia</i> ATCC 13637	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
Alfa-mannosidáza (p-nitrofenyl- α -mannopyranosid 0.3 mg)	α -MAN	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá	Bezbarvá	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19115	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Arginin dihydroláza (L-arginin HCl 3 mg)	ADH	Standard+ olej	4 hod nebo přes noc	Červená	Žlutá	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883
Beta-fukosidáza (p-nitrofenyl- β -L-fukosidáza 0.2 mg)	β -FUC	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá	Bezbarvá	<i>S. intermedius</i> ATCC 27335	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Beta-glukosidáza (p-nitrofenyl- β -D-glukopyranosid 0.3 mg)	β -GLU	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá	Bezbarvá	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	<i>Morganella morganii</i> ATCC 25830
Beta-glukuronidáza (PGUA) (kyselina p-nitrofenyl- β -D glukuronová 0.3 mg)	PGUA	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá	Bezbarvá	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883
Beta-laktamáza (kyselá) (Penicilinprokain 4 mg, Penicilin G sodný 4 mg)		Standard	15-20 min a do 4 hod	Žlutá (nebo hnědavá)	Fialová	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
Beta-N-acetylglukosaminidáza (p-nitrofenyl-N-acetyl- β -D-glukosaminid 0.2 mg)	β -NAG	Standard	4 hod nebo přes noc	Sytě žlutá	Bezbarvá	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
Beta-xylosidáza (p-nitrofenyl β -D-xylopyranosid 0.3 mg)	β -XYL	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá	Bezbarvá	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Bile eskulin	BE	Standard	4 hod nebo přes noc	Černá, šedá	Bezbarvá, světle	<i>E. faecalis</i>	<i>S. pneumoniae</i>

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

(Eskulin 2 mg, Oxgall 9 mg)			noc		šedá	ATCC 29212	ATCC 49619
Citrát (Citrát 2 mg)	CIT	Standard	18-24 hod	Červená	Žlutá, oranžová	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315
d-xyulóza (d-xyulóza 2 mg)	XYL	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, žluto-oranžová	Červená, oranžovo červená	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Morganella morganii</i> ATCC 25830
Hydrolýza eskulinu (Eskulin 2 mg)	ESC	Standard	4 hod (nebo do 24 hodin)	Černá, šedá	Bezbarvá, světle šedá	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Gamma-glutamyl aminopeptidáza (Gamma-glutamyl-β-naftylamid 0.2 mg)	γ-GLU	Standard+I	4 hod nebo přes noc	Oranžovo červená Červená	Žlutá Žlutá oranžová	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Glukóza (D-glukóza monohydrát 2 mg)	GLU	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, žluto-oranžová	Červená, oranžovo červená	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. lwoffii</i> ATCC 9957
Hydrolýza hippurátu (sodná sůl hippurové kyseliny 3 mg)	HIP	Standard+IV	4 hod	Sytě nachová, modrá	Bezbarvá, světle žlutá	<i>S. agalactiae</i> ATCC 12386	<i>S. pyogenes</i> ATCC 12344
Indoxyl acetát (Indoxyl acetát 5 mg)	IAC	Standard	4 hod nebo přes noc	Modrá, zelený sediment	Bezbarvá, jemně zabarvený supernatant	<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 33291	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
Inulin (Inulin 3 mg)	INU	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, žluto-oranžová	Červená, oranžovo červená	<i>S. mutans</i> ATCC 25175	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Laktóza (Laktóza monohydrát 3 mg)	LAC	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, žluto-oranžová	Červená, oranžovo červená	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315
L-arabinóza (L-arabinóza 3 mg)	ARA	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, žluto-oranžová	Červená, oranžovo červená	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
LDC/Indol (L-lysin 3 mg, L-tryptofan 0.7 mg)	LDC /IND	Standard+olej Nejdříve odečítejte LDC potom +Iia	3-4 hod (nebo do 24 hod)	Modrá, fialová Červená	Žlutá, zelená, šedá Žlutá	<i>E. coli</i> ATCC 25922 (LDC poz., IND poz.)	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315 (LDC neg., IND poz.) <i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883 (LDC poz., IND neg.)
Leucin aminopeptidáza (L-leucin-β-naftylamid-HCl 20 μg)	LAP	Standard+I	4 hod nebo přes noc	Červeno-oranžová Červená	Žlutá Žlutá, oranžová	<i>S. bovis</i> ATCC 15351	<i>Aerococcus viridans</i> ATCC 700406
L-rhamnóza (L-rhamnóza 3 mg)	RHAM	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, žluto-oranžová	Červená, oranžovo-červená	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315
Lysin dekarboxyláza (LDC) (L-lysin 3 mg)	LDC	Standard+olej	4 hod nebo do 24 hod	Modrá, fialová Sytě fialová	Žlutá, zelená, šedá, světle modrá	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883	<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047
Maltóza (Maltóza monohydrát 3 mg)	MAL	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, žluto-oranžová	Červená, oranžovo červená	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Morganella morganii</i> ATCC 25830

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

Manitol (D-Mannitol 3 mg)	MAN	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, oranžová	žluto	Červená, oranžovo červená	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315
Manóza (D-Manóza 3 mg)	MSE	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, oranžová	žluto	Červená, oranžovo červená	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315
Melibióza (D-Melibióza 3 mg)	MEL	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, oranžová	žluto	Červená, oranžovo červená	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315
Redukce nitrátu (molybdenan sodný 40 µg, dusičnan draselný 4 mg)	NO ₃	Standard+V	4 hod nebo přes noc	Červená, růžová		Bezbarvá, světle růžová	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. saprophyticus</i> ATCC 15305
ONPG (Beta-galaktosidáza) (o-nitrofenyl-β-D-galaktopyranosid 0.4 mg)	ONPG	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá		Bezbarvá	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
ONPG/PYR (o-nitrofenyl-β-D-galaktopyranosid 0.4 mg, L-pyrrolidonyl-β-naftylamid 0.2 mg)	ONPG/ PYR	Standard Nejdříve odečítejte ONPG potom +I.	3-4 hod (u nefermentujících 18-24 hod)	Žlutá Červená		Bezbarvá Žlutá, oranžová	<i>S. haemolyticus</i> ATCC 29970 (ONPG neg., PYR poz.)	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315 (ONPG neg., PYR neg.)
Ornitin dekarboxyláza (ODC) (L-ornitin HCl 3 mg)	ODC	Standard+olej	4 hod nebo do 24 hod	Modrá, fialová, Sytě fialová		Žlutá, zelená, šedá, světle modrá	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883
Oxidáza (Tetramethyl-p-fenylenediamin 0.7 mg)	OXI	Viz text	Odečet po 2 min	Modrá, nachová		Bez barevné změny	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. coli</i> ATCC 25922
PGUA/Indol (p-nitrofenyl-β-D-glukuronová kyselina 0.4 mg, L-tryptofan 1 mg)	PGUA/ IND	Standard Nejdříve odečítejte PGUA potom +IIa.	3-4 hod (nebo do 24 hod)	Žlutá Červená		Bezbarvá Žlutá	<i>E. coli</i> ATCC 25922 (PGUA poz., IND poz.) <i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315 (PGUA neg., IND poz.)	<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047 (PGUA neg., IND neg.)
Porfyrin (d-Ala) (d-aminolevulinová kyselina 0.1 mg)	ALA	Standard+IIb	4-6 hod nebo do 24 hod	Červená, růžová ve spodní vodní fázi		Bezbarvá vodní fáze	<i>H. parainfluenzae</i> ATCC 7901	<i>H. influenzae</i> ATCC 49247
Prolin aminopeptidáza (L-prolin β-naftylamid-HCl 80 µg)	PRO	Standard+I	4 hod nebo přes noc	Červeno-oranžová Červená		Žlutá Žlutá, oranžová	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Cl. perfringens</i> ATCC 12917
Pyrazinamidáza (Pyrazinamid 0.9 mg)	PZA	Standard ^a	4 hod nebo přes noc	Oranžová, červená		Bezbarvá, světle žlutá	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
Pyrrolidonyl aminopeptidáza (L-pyrrolidonyl-β-naftylamid 0.2 mg)	PYR	Standard+I	4 hod nebo přes noc	Červeno-oranžová Červená		Žlutá Žlutá, oranžová	<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Rafinóza (D-rafinóza pentahydrát 3 mg)	RAF	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, žluto oranžová		Červená, oranžovo červená	<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	<i>E. coli</i> ATCC 25922

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

Sorbitol (D-sorbitol 2mg)	SOR	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, žluto oranžová	Červená, oranžovo červená	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315
Sacharóza (Sacharóza 3 mg)	SUC	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, žluto oranžová	Červená, oranžovo červená	<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	<i>Morganella morganii</i> ATCC 25830
TDA nebo indol: indol (L-tryptofan 1 mg)	IND	Standard+IIa	4 hod nebo přes noc	Červená (nachová, růžová) barva povrchové vrstvy	Žlutá	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883
TDA nebo indol: TDA (L-tryptofan 1 mg)	TDA	Standard+III	4 hod nebo přes noc	Hnědá, červená	Žlutá, oranžová	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883
Tetrathionát reduktáza (Tetrathionát 2 mg)	TTR	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá	Červeno-oranžová	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Trehalóza (D-trehalóza dihydrát 2 mg)	TRE	Standard	4 hod nebo přes noc	Žlutá, žluto oranžová	Červená, oranžovo červená	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Morganella morganii</i> ATCC 25830
Tributyryn (Tributyryn 2 mg)	TRIB	Standard	4 hod (nebo přes noc)	Žlutá, žluto oranžová	Červená	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Trypsin (Na-benzoyl-DL-arginin-β-naftylamid 0.2 mg)	TRYP	Standard+I	4 hod nebo přes noc	Červeno-oranžová Červená	Žlutá Žlutá, oranžová	<i>S. maltophilia</i> ATCC 13637	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Ureáza (Urea 8 mg)	URE	Standard	4 hod (nebo přes noc)	Červená/nachová ^b	Žlutá, oranžová	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Ureáza/Indol (Urea 4 mg, L-tryptofan 1 mg)	URE/ IND	Standard Nejdříve odečítejte URE potom +Iia.	4 hod (nebo přes noc)	Červená, nachová Červená	Žlutá Žlutá,oranžová	<i>Morganella morganii</i> ATCC 25830 (URE poz., IND poz.) <i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883 (URE poz., IND neg.)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 (URE neg., IND poz.)
Ureáza/TDA (Urea 4 mg, L-tryptofan 1 μg)	URE/ TDA	Standard Nejdříve odečítejte URE potom +III.	4 hod (nebo přes noc)	Červená, nachová Červená, hnědá	Žlutá Žlutá,oranžová	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315 (URE poz., TDA poz.) <i>K. pneumoniae</i> ATCC 13883 (URE poz., TDA neg.)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 (URE neg., TDA neg.)
Voges-Proskauer (pyruvát sodný 2 mg, kreatin 0.1mg)	VP	Standard+VI	4 hod	Červená, růžová	Bezbarvá (bez barevné změny)	<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	<i>E. coli</i> ATCC 25922

Postup:

Standard: Připravte bakteriální suspenzi (nejméně 4. stupeň McFarlanda) z plotny inkubované přes noc ve zkumavce s 0,25 ml fyziologického roztoku. Přidejte 1 Diatabs, zavřete zkumavku, inkubujte při 35-37 °C.

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

Standard+olej: Připravte bakteriální suspenzi (nejméně 4. stupeň McFarlanda) z plotny inkubované přes noc ve zkumavce s 0,25 ml fyziologického roztoku. Přidejte jednu Diatabs a 3 kapky parafinového oleje, uzavřete zkumavku a inkubujte při 35-37 °C.

a) Připravte bakteriální suspenzi v destilované vodě. Po inkubaci přidejte jednu kapku roztoku 5% síranu amonno-železnatého v čištěné vodě (čerstvě připravený a uchovávaný při -20 °C). Pro *Corynebacteriae* použijte inokulum McFarland 8. b) Pozitivní reakcí při inkubaci přes noc je pouze silné červené nebo nachové zbarvení.

Reagencie, které se přidávají po inkubaci:

I. Přidejte 3 kapky aminopeptidázové reagencie (Rosco #92231) a odečítejte barevnou reakci během 5 min.

IIa. Přidejte 3 kapky Kováčova činidla (Rosco #92031), protřepejte a odečítejte zbarvení svrchní vrstvy po 3 min.

IIb. Přidejte 4 kapky Kováčova činidla (Rosco #92031), protřepejte a čekejte 10 min.

III. Přidejte 2 kapky 10% roztoku chloridu železitého a odečtěte zbarvení během 5 min.

IV. Přidejte 5 kapek 3.5% roztoku ninhydrinu (Rosco #91731), uzavřete zkumavku a znovu inkubujte 10 min. Odečítejte během 5 min.

V. Přidejte 1 kapku N,N-dimethyl- α -naftylaminu a 1 kapku sulfanilového roztoku. Odečítejte během 2 min.

VI. Přidejte 2 kapky roztoku alfa-naftolu (5% v ethanolu) a potom 1 kapku 40% KOH a protřepejte.

Revize: DBV0009F

Datum vydání: 30. 11. 2006

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz