



COLItest



Kat. č.: MLT00035
COLItest je určený především pro rychlou identifikaci kmenů Escherichia coli, na základě detekce aktivity β-glukuronidázy (GLR) a tvorby indolu (IND). Pro hodnocení COLItestu postačují 4 hodiny inkubace. COLItest je doporučen Národní referenční laboratoří pro Escherichia coli a shigelly SZU-CEM, pro všechny laboratoře, které izolují E. coli; je vhodný pro identifikaci E. coli z klinického materiálu, potravin, vod apod.

Princip:
Proužek z balení COLItestu se vloží do suspenze testovaného kmene ve fyziologickém roztoku a inkubuje se v termostatu. Substance obsažené v zóně proužku jsou uvolněny do suspenze, v níž se odečítají reakce. Substrátem pro detekci aktivity β-glukuronidázy je 4-methyl-umbelliferyl-β-D-glukuronid; v přítomnosti β-glukuronidázy je hydrolyzován - uvolněný 4-methylumbelliferon vykazuje pod zářím UV záření modrou fluorescence. Substrátem pro reakci tvorby indolu je L-tryptophan; vzniklý indol je detekován reakcí s p-dimethylaminobenzaldehydem, obsaženým v roztoku činidla pro IND - po přidání činidla pro IND k suspenzi se pozitivní reakce projeví vznikem červeného zbarvení.

Balení COLItestu obsahuje:
• 50 ks proužků pro 50 stanovení
• pracovní návod

Skladování, expirace:
COLItest je třeba skladovat při teplotě (+2 až +8) °C. Exspirace je vyznačena na každém balení.

Upozornění:
• Test je určen pouze k profesionálnímu použití

Potřeby:
• proužky COLItestu
• zkumavky s (0,5–1) ml fyziologického roztoku
• termostát 37 °C
• UV lamp
• Činidlo pro test INDOL, kat. č. MLT00020
• Přístroj DENSILAMETER II, kat. č. INS00062

Pracovní postup:
• Pro určení E. coli proveďte COLItest z kultur koliformních bakterií, ev. gramnegativních, oxidáza negativních tyčků.
• Z čisté kultury testovaného kmene připravte suspenzi v (0,5–1) ml sterilního fyziologického roztoku, rozptlněného do zkumavek.
• Použijte hustotu suspenzi (3. stupně McFarlandovy zákalové stupnice a více).
• Do suspenze vložte proužek COLItestu takovým způsobem, aby papírová zóna nalepená na proužku byla do suspenze ponořená.
• Inkubujte v termostatu při teplotě 37 °C.
• Po 4 h inkubace odečtete nejprve test GLR a zaznamenejte výsledek, a poté odečtete test na tvorbu indolu (IND).
• K odečítání testu GLR použijte zdroj UV záření o vlnové délce cca 360 nm, test odečtíte v temnu; pozitivní reakce se projeví vznikem modré fluorescence.
• Pozitivní reakce testu IND se projeví, po přidání 4–5 kapek činidla pro IND, vznikem červeného nebo růžového zbarvení, ev. vznikem červeného nebo růžového prstence na rozhraní suspenze a činidla.

Poznámka:
• Pozitivní GLR test lze předběžně odečítat již po 1 h inkubace.

Likvidace:
Na použitý proužek je nutné pohlížet jako na potenciálně infekční a likvidovat ho podle vlastních interních předpisů jako nebezpečný odpad v souladu se Zákonem o odpadech. Prázdné obaly se předají do sběru k recyklaci, případně do komunálního odpadu.

Interpretace reakcí			Vysvětlivky:	GLR - test na detekci aktivity β-glukuronidázy IND - test na detekci tvorby indolu
Reakce	GLR (fluorescenční reakce)	IND (barevná reakce)		
pozitivní	modrá fluorescence	červené až růžové zbarvení		
negativní	nevykazuje fluorescenci	žluté až nažloutlé zbarvení		

Další doporučení:
• Sklo použitých zkumavek nesmí vykazovat vlastní fluorescenci - vyzkoušejte pod zdrojem UV záření před zahájením práce.
• Vždy použijte negativní kontrolu: vložte 1 proužek do čistého fyziologického roztoku a inkubujte současně se suspenzemi testovaných kmenů; negativní kontrola nesmí vykazovat fluorescenci.
• Pro kontrolu negativní a pozitivní reakce a jejich interpretaci jsou doporučené kontrolní kmeny – viz tabulka.
• Odečítání provádějte v temnu: v zatemněné místnosti, na dobře zastíněném pracovním stole, nejlépe v zařízení k hodnocení fluorescence (např. Hansenova skříň).
Hodnocení:
Koliformní bakterii resp. gramnegativní, oxidáza negativní tyčku vykazující na COLItestu reakce GLR + IND + hodnotte jako Escherichia coli.
Zřídka se mohou vyskytnout kmeny E. coli GLR + IND -, kombinace GLR - IND + je typická pro E. coli O157 H:7.
Poznámka:
• Pozitivní GLR reakci vykazuje přibližně 95 % kmenů E.coli; kombinace GLR reakce s tvorbou indolu resp. charakteristikou koliformní bakterie je pro E. coli vysoce specifická.
• COLItest lze použít i u jiných skupin bakterií, např. pro detekci GLR reakce pro diferenciaci stafylokoků.

Kmen	CCM	ATCC	GLR	IND
Escherichia coli	3988	10536	+	+
Serratia marcescens	303	13880	-	-

Tyto kmeny dodává **Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno, CZ**
Tel: 549 491 430, Fax: 549 498 289,
www.sci.muni.cz/ccm, e-mail: ccm@sci.muni.cz
Kmeny jsou dodávány v lyofilizovaném stavu nebo na želatinových discích.

Literatura:
Chang, G. W. et al. Appl. Environ. Microbiol. 55, 335-339, 1989
Dealler, S. F. et al. Med. Lab. Sci. 49, 12-15, 1992
Dominguez, A. et al. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 15, 291-294, 1993
Edberg, S. C., and Kotnick, C. M. J. Clin. Microbiol. 24, 368-371, 1986
Kämpfer, P. et al J. Clin. Microbiol. 29, 2877-2879, 1991,
Manafi, M. Zbl. Hyg. 189, 225-234, 1989
Manafi, M. and Kneifel, W. Acta Microbiol. Hung. 38, 293-304, 1991
Rice, E.W. et al. Appl. Environ. Microbiol. 56, 1203-1205, 1990

Datum revize: 13. 8. 2020



COLItest

Kat. č.: MLT00035
COLItest je určený predovšetkým pre rýchlu identifikáciu kmeňov Escherichia coli, na základe detekcie aktivity β-glukuronidázy (GLR) a tvorby indolu (IND). Pre hodnotenie COLItestu postačujú 4 hodiny inkubácie. COLItest je odporúčaný Národným referenčným laboratóriom pre Escherichia coli a shigelly SZU-CEM, pre všetky laboratória, ktoré izolujú E. coli z klinického materiálu, potravín, vôd apod.

Princip:
Prúžok z balenia COLItestu sa vloží do suspenzie testovaného kmeňa vo fyziologickom roztoku a inkubuje sa v termostate. Substancie obsiahnuté v zóne prúžka sú uvoľnené do suspenzie, v ktorej sa odčítajú reakcie. Substrátom pre detekciu aktivity β-glukuronidázy je 4-metyl-umbelliferyl-β-D-glukuronid; v prítomnosti β-glukuronidázy je hydrolyzovaný - uvoľnený 4-methylumbelliferon vykazuje pod zdrojom UV žiarenia modrú fluorescenciu. Substrátom pre reakciu tvorby indolu je L-tryptophan; vzniknutý indol je detekovaný reakciou s p-dimetylaminobenzaldehydom, obsiahnutým v roztoku činidla pre IND po pridaní činidla pre IND k suspenzii sa pozitívna reakcia prejaví vznikom červeného zafarbenia.

Balenie COLItestu obsahuje:
• 50 ks prúžkov pre 50 stanovení
• pracovný návod

Skladovanie, expirácia:
COLItest skladujte pri teplote (+2 až +8) °C. Expirácia je vyznačená na každom balení.

Upozornenie:
• Test je určený iba na profesionálne použitie

Potreby:
• prúžky COLItestu
• skúmavky s (0,5–1) ml fyziologického roztoku
• termostát 37 °C
• UV lamp
• Činidlo pro test INDOL, kat. č. MLT00020
• Přístroj DENSILAMETER II, kat. č. INS00062

Pracovní postup:
• Pre určenie E. coli preveďte COLItest z kultúr koliformných baktérií, ev. gramnegatívnych, oxidáza negatívnych tyčiek.
• Z čistej kultúry testovaného kmeňa pripravte suspenziu v (0,5–1) ml sterilného fyziologického roztoku, rozptlného do skúmaviiek.
• Použite hustú suspenziu (3. stupňa McFarlandovej zákalovej stupnice a viac).
• Do suspenzie vložte prúžok COLItestu takým spôsobom, aby papierová zóna nalepená na prúžku bola do suspenzie ponorená.
• Inkubujte v termostate pri teplote 37 °C.
• Po 4 hodinách inkubácie odčítajte najprv test GLR a zaznamenate výsledok, potom odčítajte test na tvorbu indolu (IND).
• Na odčítanie testu GLR použijte zdroj UV žiarenia s vlnovou dĺžkou cca 360 nm, test odčítajte v tme; pozitívna reakcia sa prejaví vznikom modrej fluorescence.
• Pozitívna reakcia testu IND sa prejaví, po pridaní 4–5 kvapiek činidla pre IND, vznikom červeného alebo ružového sfarbenia, ev. vznikom červeného alebo ružového prstenca na rozhraní suspenzie a činidla.

Poznámka:
• Pozitívny GLR test je možné predbežne odčítať už po 1 h inkubácie.

Likvidácia:
Na použitý prúžok je nutno pozerať ako na potenciálne infekčný a likvidovať ho podľa vlastných interných predpisov v súlade s národnou legislatívou. Prázdne obaly dajte do zberu k recyklácii, prípadne do komunálneho odpadu.

Interpretácia reakcií			Vysvetlivky:	GLR - test na detekciu aktivity β-glukuronidázy IND - test na detekciu tvorby indolu
Reakcia	GLR (fluorescenčná reakcia)	IND (farebná reakcia)		
pozitívna	modrá fluorescencia	červené až ružové zafarbenie		
negatívna	nevykazuje fluorescenciu	žlté až nažltnuté zafarbenie		

Dalšie odporúčania:
• Sklo použitých skúmaviiek nesmie vykazovať vlastnú fluorescenciu - vyskúšajte pod zdrojom UV žiarenia pred zahájením práce.
• Vždy použite negatívnu kontrolu: vložte 1 prúžok do čistého fyziologického roztoku a inkubujte súčasne so suspenziami testovaných kmeňov; negatívna kontrola nesmie vykazovať fluorescenciu.
• Pre kontrolu negatívnej a pozitívnej reakcie a ich interpretáciu sú odporúčané kontrolné kmeny - viď. tabuľka.
• Odčítanie prevádzajte v tme: v zatemnenej miestnosti, na dobre zatienenom pracovnom stole, najlepšie v zariadení určenom na hodnotenie fluorescence (napr. Hansenova skriňa).
Hodnotenie:
Koliformnú baktériu resp. gramnegatívnu, oxidáza negatívnu tyčku vykazujúcu na COLIteste reakcie GLR + IND + hodnotte ako Escherichia coli.
Zriedka sa môžu vyskytnúť kmeny E. coli GLR + IND -, kombinácia GLR - IND + je typická pre E. coli O157 H:7.
Poznámka:
• Pozitívnu GLR reakciu vykazuje približne 95 % kmeňov E. coli; kombinácia GLR reakcie s tvorbou indolu resp. charakteristikou koliformnej baktérie je pre E. coli veľmi špecifická.
• COLItest je možné použiť aj u iných skupín baktérií, napr. pre detekciu GLR reakcie pre diferenciáciu stafylokokov.

Kmeň	CCM	ATCC	GLR	IND
Escherichia coli	3988	10536	+	+
Serratia marcescens	303	13880	-	-

Tieto kmeny dodáva **Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno, CZ**
Tel: +420 549 491 430, Fax: +420 549 498 289
www.sci.muni.cz/ccm, e-mail: ccm@sci.muni.cz
Kmeny sú dodávané v lyofilizovanom stave alebo na želatínových diskoch.

Literatúra:
Chang, G. W. et al. Appl. Environ. Microbiol. 55, 335-339, 1989
Dealler, S. F. et al. Med. Lab. Sci. 49, 12-15, 1992
Dominguez, A. et al. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 15, 291-294, 1993
Edberg, S. C., and Kotnick, C. M. J. Clin. Microbiol. 24, 368-371, 1986
Kämpfer, P. et al J. Clin. Microbiol. 29, 2877-2879, 1991,
Manafi, M. Zbl. Hyg. 189, 225-234, 1989
Manafi, M. and Kneifel, W. Acta Microbiol. Hung. 38, 293-304, 1991
Rice, E.W. et al. Appl. Environ. Microbiol. 56, 1203-1205, 1990

Dátum revízie: 13. 8. 2020



COLItest



Cat. No.: MLT00035
The identification strips COLItest are intended for quick identification of Escherichia coli bacteria, isolated from clinical materials, foodstuffs, waters etc. The identification is based on the determination of β-glucuronidase activity and indole formation. The reaction can be after only 4 hours of incubation.

Principle:
The strip of COLItest is inserted into the suspension of the tested strain in saline solution and incubated at 37 °C. Reaction substances are released into the suspension where the reactions are read after time of incubation. The β - glucuronidase enzyme splits 4 - methylumbelliferyl - β - D - glucuronide; released 4 - methylumbelliferon gives blue fluorescence under an UV lamp. Production of indole from L-tryptophan is detected by red colouring after addition of indole specific reagent (solution of p-dimethylaminobenzaldehyde).

A package of the COLItest contains:
• 50 test strips for 50 determinations
• working leaflet

Storage:
In refrigerator at (+2 to +8) °C. The time of expiration is marked on each package.

Caution:
• For professional use only

Materials:
• COLItest strip
• Sterile saline solution 0.5–1 ml in test tubes
• Incubator 37 °C
• Long wavelength UV lamp, about 360 nm (for example commercially available battery – operated UV lamps)
• Reagent for INDOL test cat. No. MLT00020
• Instrument DENSILAMETER II cat. No. INS00062

Recommended procedure:
• Use COLItest for coliform bacteria and/or gramnegative, oxidase negative rods
• Prepare suspension at 0.5–1 ml of sterile saline solution from the tested strain
• The density if the suspension should be equal to number 3 McFarland's barium sulphate standard
• Insert one COLItest strip into the tube with suspension - the paper zone of the strip has to be soaked into the suspension
• Incubate at 37 °C
• After 4 hours of incubation:
- first, read β-glucuronidase reaction (GLR) and record the result
- use UV lamp 360 nm, read the GLR test in a dark place; the positive reaction gives blue fluorescence
- after GLR test, read indole test (IND); add 4–5 drops of Reagent for IND the positive reaction is indicated by red colouring

Note:
• The GLR test can be preliminary read after 1 hour of incubation

Waste disposal:
Used strip should be treated as potentially infectious and should be liquidated in accordance with any other local and national regulations relating to the safe handling of such materials. Put packaging waste to recycling or in municipal waste.

Interpretation of the reactions			Explanations: GLR - β-glucuronidase test IND - indole production test
Reaction	GLR (fluorescence)	IND (colour reaction)	
positive	blue fluorescence	red to pink colour	
negative	no fluorescence	yellow to yellowish colour	

Recommendations:
• The glass tubes are free of any fluorescence test the tubes under UV lamp before starting the test
• Always, use negative control; insert 1 strip of COLItest into the pure saline solution and incubate it together with the tested strains suspensions; the negative control does not exhibit any fluorescence
• It is possible to use recommended control strains - see table "Control strains"
Evaluation:
Typical Escherichia coli strains gives GLR + IND + reactions. Some strains of Escherichia coli can give GLR+ IND - or GLR- IND+ reactions. Confirm these strains by further identification. Combination of GLR-IND+ is typical for E. coli O157 H:7.
Note:
• About 95 % strains of Escherichia coli are β-glucuronidase positive; positive indole reaction increases sensitivity and specificity of E. coli identification
• The COLItest is also suitable for differentiation of other groups of bacteria, for example for detection of β-glucuronidase activity within staphylococci etc.

Strain	CCM	ATCC	GLR	IND
Escherichia coli	3988	10536	+	+
Serratia marcescens	303	13880	-	-

References:
Chang, G. W. et al. Appl. Environ. Microbiol. 55, 335-339, 1989
Dealler, S. F. et al. Med. Lab. Sci. 49, 12-15, 1992
Dominguez, A. et al. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 15, 291-294, 1993
Edberg, S. C., and Kotnick, C. M. J. Clin. Microbiol. 24, 368-371, 1986
Kämpfer, P. et al J. Clin. Microbiol. 29, 2877-2879, 1991,
Manafi, M. Zbl. Hyg. 189, 225-234, 1989
Manafi, M. and Kneifel, W. Acta Microbiol. Hung. 38, 293-304, 1991
Rice, E.W. et al. Appl. Environ. Microbiol. 56, 1203-1205, 1990

The strains are delivered in a lyophilized form or on gelatinized disks.

Date of revision: 13. 8. 2020

POUŽITÉ SYMBOLY / USED SYMBOLS

Katalogové číslo
Katalógové číslo
Catalogue Number

Číslo šarže
Lot Number

Datum expirace
Datum expirace
Expiry Date

Výrobce
Výrobca
Manufacturer

In vitro diagnostikum
In Vitro Diagnostics

Čtěte návod k použití
Čítajte návod k použitiu
See Instruction for Use

Teplota skladování
Teplota skladovania
Storage Temperature

КОЛИтест - определение
кишечной палочки

Для микробиологии
Идентификационные полоски КОЛИтест предназначены для быстрой идентификации кишечной палочки, выделенной из клинического материала, пищевых продуктов, воды и т. д. Идентификация основана на определении β-глокоронидазной активности и образования индола. Результаты анализов учитываются через 4 часа инкубации в термостате.
Принцип метода:
Полоски КОЛИтеста помещаются в суспензию тестируемого штамма микроорганизма, приготовленную на физиологическом растворе, и инкубируются при 37 градусах С. Продукты реакций высвобождаются в пробирках с суспензиями и учитываются после инкубации в термостате. Фермент β-glucuronidase расщепляет 4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide с высвобождением при этом 4-метилумбеллиферон, который дает голубую флуоресценцию при просмотре в ультрафиолетовых лучах. Продукция индола из L-tryptophan определяется появлением красного окрашивания после добавления специфического реагента на индол (p-dimethylaminobenzaldehyde).

Упаковка КОЛИтеста содержит:
• 50 полосок на 50 определений
• Инструкцию по применению
Условия хранения и срок годности:
Хранит при (+2 до +8) градусах С. Срок годности указан на каждой упаковке.
Предупреждение:
• Тест предназначен только для квалифицированного использования

Материалы:
• Полоски КОЛИтеста
• Стерильный физиологический раствор 0,5–1 мл в пробирках
• Пробирки
• Термостат на 37 градусов С
• Длинно-волновая ультрафиолетовая лампа с длиной волны 360 нм (например, имеющиеся в продаже ультрафиолетовые лампы на батарейках)
• Реактив для теста Индол, ном. номер MLT00020
• Прибор ДЕНСИЛАМЕТР II, Ном. номер INS00062

Рекомендации к выполнению теста:
• Используйте КОЛИтест для колиформных бактерий и/или грамтрицательных оксидазотрицательных палочек.
• Приготовьте 0,5–1 мл суспензии тестируемого микроорганизма в стерильном физиологическом растворе
• Мутность суспензии должна соответствовать 3 номеру по шкале McFarland
• Поместите 1 полоску КОЛИтеста в пробирку с суспензией (бумажная зона полоски должна быть полностью погружена в суспензию)
• Инкубируйте пробирки при 37 градусах С

После 4-х часовой инкубации:
• Вначале учтите результаты
• - глюкоронидазной реакции (GLR) в темном месте под ультрафиолетовой лампой (длина волны 360 нм). При положительной реакции наблюдается голубая флуоресценция, запишите результат.
• Затем в пробирку с суспензией добавьте 4–5 капель реактива на индол (IND). При положительной реакции появляется красное окрашивание.

Внимание:
Предварительный результат теста GLR может быть получен через 1 час термостатирования.
Ликвидация:
Используемую полоску считают атериалом, который может быть инфицирован, подлежит уничтожению в соответствии с утвержденными внутрибольничными правилами. Бумажную упаковку сдайте в макулатуру, заводскую тару в сортированный мусор.

Реакция	GLR (fluorescenční reakce)	IND (цветная реакция)
Положительная	голубая флуоресценция	красный, розовый цвет
Отрицательная	отсутствие флуоресценция	желтый, желтоватый цвет

Рекомендации:
• Перед постановкой теста проверьте пустые пробирки под ультрафиолетовой лампой на отсутствие флуоресценции.
• Ставьте с каждой серии анализов контроль: полоску КОЛИтеста погрузите в используемый в опыте физиологический раствор и инкубируйте в термостате одновременно с опытными пробирками. Отрицательный контроль не должен давать флуоресценции.
• Для проверки работы КОЛИтеста используйте контрольные штаммы микроорганизмов (см. таблицу „Контрольные штаммы“).

Оценка результатов:
У типичных штаммов кишечной палочки - GLR + IND +
у некоторых штаммов кишечной палочки может быть GLR- IND+ или GLR+ IND-.
Эти штаммы подлежат дальнейшей идентификации. GLR- IND+ типичная для E. Coli O157 H:7
Примечание:
• Около 95 % штаммов кишечной палочки положительны по тесту GLR; положительный тест на образование индола повышает возможность идентификации кишечной палочки.
• КОЛИтест пригоден для идентификации других групп микроорганизмов, например для определения β-глокоронидазной активности стафилококков и т.д.

Штамм	CCM	ATCC	GLR	IND
Escherichia coli	3988	10536	+	+
Serratia marcescens	303	13880	-	-

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

Артикул	Наименование как в РУ	Номер РУ	Дата выдачи РУ
MLT00035	КОЛИтест - определение кишечной палочки	ФСЗ 2010/07333	от 14.05.2019

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ / UŻYTE SYMBOLE / ВИКОРИСТАНІ ПОЗНАЧКИ

REF

Каталожный номер
Numer Katalogowy
Каталожный номер

LOT

Номер партии
Numer Partii
Номер партії

Срок годности
Termin Ważności
Термін придатності

Производитель
Producent
Виробник

IVD

Ин витро диагностика
Urządzenie
Diagnostyczne in Vitro
In vitro диагностика

Перед использованием
внимательно изучайте инструкцию
Patrz: Instrukcja Użycia
Перед використанням уважно
вивчіть Інструкцію

Температура хранения
Temperatury Graniczne
Температура зберігання

Национальный знак
відповідності для України



COLItest



КОЛІтест



Nr kat.: MLT00035
COLItest przeznaczony jest do szybkiego oznaczenia szczepów *Escherichia coli*, na podstawie wykrywania aktywności β-glukuronidazy (GLR) oraz obecności indolu (IND). Odczyt COLItestu można przeprowadzić po 4 godziny inkubacji. COLItest zalecany jest przez Państwowe Laboratorium Referencyjne dla *Escherichia coli* i *Shigella* SZU-CEM, dla wszystkich laboratoriów, które izolują *E.coli*; jest przydatny do oznaczania *E. coli* z materiału klinicznego, żywności, wody itp.

Zasada działania:
Pasek z opakowania włożyć do zawiesiny badanego szczepu w roztworze soli fizjologicznej, inkubować w cieplarnie. Substancje, które znajdują się w polu paska, uwolnione zostaną do zawiesiny, z której odczytuje się wynik reakcji na podstawie zmiany barw. Substratem do wykrywania aktywności β-glukuronidazy jest 4-metyl-umbelliferyl-β-D-glukuro-
nid; w obecności β-glukuronidazy jest on hydrolizowany, następnie uwalniany 4-metylumbelliferon pod źródłem ultrafioletowego promieniowania wykazuje niebieską fluorescencję. Substratem służącym do oznaczania obecności indolu jest L-tryptophan; obecność indolu jest potwierdzana poprzez reakcję z p-dwumetyloaminobenzaldehydem, zawartym w roztworze odczynnika IND - po dodaniu odczynnika IND do zawiesiny powstaje czerwone zabarwienie.

COLItest zawiera:
• 50 pasków COLItest do 50 oznaczeń
• Instrukcję obsługi
Przechowywanie, termin ważności:
Zestaw COLItest należy przechowywać w temperaturze od +2 do +8 °C. Termin ważności podany jest na każdym opakowaniu.

Ostrzeżenie:
Przeznaczono do zastosowania w diagnostyce in vitro przez upoważnioną oraz profesjonalnie przeszkoloną osobę.
Potrzebne są:
• Paski COLItest
• próbówki z (0,5–1) ml roztworu soli fizjologicznej
• Ciepłarnia 37 °C
• Lampa ultrafioletowa
• Odczynnik do testu INDOL, nr kat. MLT00020
• Aparat DENSILAMETER II, nr kat. INS00062

Procedura pracy:
• Do oznaczenia *E. coli* przeprowadzić COLItest na szczepach bakterii koliformnych, ewentualnie gram-ujemnych, oksydazo-ujemnych pałeczek.
• Z czystej hodowli badanego szczepu przygotować zawiesinę w (0,5–1) ml sterylnego roztworu soli fizjologicznej, i następnie rozlać zawiesinę do próbek.
• Zastosować gęstą zawiesinę (3, stopień w skali zmętnienia McFarlanda i więcej).
• Do zawiesiny włożyć 1 pasek COLItest w taki sposób, aby papierowa stręła naklejona na pasku została zanurzona do zawiesiny.
• Inkubować w temperaturze 37°C
• Po upływie 4 godzin inkubacji najpierw odczytać GLR test, wyniki zapisać, i następnie odczytać test na indol (IND).
• Do oceny GLR testu zastosować źródło promieniowania ultrafioletowego o długości fali około 360 nm, test odczytywać w ciemnym miejscu; reakcję dodatnią potwierdza nie-
bieska fluorescencja.
• Dodatnią reakcję testu IND potwierdza powstanie czerwonego lub różowego zabarwienia, ewentualnie powstanie czerwonej lub różowej obrączki na granicy zawiesiny i odczy-
nnika (po dodaniu do zawiesiny 4–5 kropeł odczynnika IND)
Uwaga:
• Dodatni GLR test można wstępnie odczytać już po 1 godzinie inkubacji.
Ustawianie wykorzystanych materiałów:
Użyte paski należy traktować jako potencjalnie zakaźne oraz likwidować według własnych przepisów wewnętrznych jako odpad niebezpieczny zgodnie z Ustawą o odpadach. Reste opakowania wyrzucić do pojemników z odpadami do recyklingu, ewentualnie do pojemników z odpadami komunalnymi.

Reakcja	GLR (reakcja fluorescencyjna)	IND (reakcja barwna)
dodatnia	fluorescencja niebieska	zabarwienie czerwone aż różowe
ujemna	nie wykazuje fluorescencji	zabarwienie żółte aż żółtawe

Wyjaśnienia:
GLR - test do wykrycia aktywności β-glukuronidazy
IND - test do wykrycia obecności indolu

Dodatkowe zalecenia:
• Szkło zastosowanych próbek nie powinno wykazywać własnej fluorescencji, co należy sprawdzić pod źródłem promieniowania ultrafioletowego.
• Zawsze zastosować ujemną kontrolę: 1 pasek włożyć do czystego roztworu soli fizjologicznej oraz inkubować razem z zawieszoną testowanych szczepów; ujemną kontrolę oczytuje brak fluorescencji.
• Do kontroli reakcji ujemnej oraz dodatniej oraz do ich odczytu (interpretacji) zalecane są szczepy kontrolne patrz tabela.
• Ocene (odczyt) przeprowadzać w ciemnym miejscu: w zaciemnionym pomieszczeniu, na dobrze przyciemnionym stole roboczym, najlepiej w urządzeniu do odczytu fluorescencji (np. Boks Hansena).
Ocena:
Bakterie koliformne, ew. gram-ujemne, oksydazo-ujemne pałeczki z wynikiem w przypadku testu COLItest: GLR + IND + identyfikować jako *Escherichia coli*. Rzadko mogą występować szczepy *E. Coli* GLR+ IND-, kombinacja GLR-IND+ jest typową dla *E. Coli* O157 H:7.
Uwaga:
• dodatkna reakcja GLR występuje w ok. 95 % *E. coli*, w połączeniu z reakcją na obecność indolu (ewentualnie charakterystyką bakterii koliformnych) jest wysoco swoista dla *E. coli*.
• COLItest można zastosować także w przypadku innych szczepów bakterii, oznaczanie GLR może służyć do różnicowania gronkowców.

Szczep	CCM	ATCC	GLR	IND
Escherichia coli	3988	10536	+	+
Serratia marcescens	303	13880	-	-

Szczepy tę można otrzymać w: **Czech Collection of Microorganisms Masaryk University, Faculty of Science, Kamenice 5, building A25, 625 00 Brno, CZ**
Tel: +420 549 491 430, Fax: +420 549 498 289
www.sci.muni.cz/ccm, e-mail: ccm@sci.muni.cz
Szczepy dostarczane są w formie liofilizowanej lub na krążkach żelatinowych.

WYTWÓRCA: Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 BRNO, REPUBLIKA CZESKA
Przedstawicielstwo w Polsce:
ERBA POLSKA Sp. z o.o., WDC ul. Szyszkowa 35/37, 02-285 Warszawa, tel.: +48 510 251 115, +48 228 783 150, fax: +48 228 783 150, e-mail: erbapolska@erbamannheim.com

Kat. номер: MLT00035
КОЛІтест призначений для швидкої ідентифікації *Escherichia coli*, виділеної з клінічного матеріалу, харчових продуктів, водитощо. Ідентифікація ґрунтується на визначенні β-глокоронідазної активності і утворенні індолу. Результати дослідження фіксуються через 4-годинної інкубації.

Принцип методу:
Смужки КОЛІтест розміщуються в приготовлений на фізіологічному розчині суспензії досліджуваного штаму і інкубуються за температури 37 °С. Продукти реакції вивільнюються в пробірки із суспензіями і фіксуються після інкубації. Фермент β-глокоронідаза розщеплює 4-метилбеліферил-β-D-глюкоронід із вивільненням 4-метилбеліферону, який спричиняє флуоресценцію голубого кольору при огляді в УФ-променях. Вироблення індолу з L-триптофану визначається за появою червоного забарвлення після додавання специфічного для індолу реагенту (p-диметиламінобензальдегід).

Склад набору КОЛІтест:
• 50 смужок в тубусі (на 50 визначень)
• Інструкція-вкладення
Умови зберігання і термін придатності:
Зберігати за температури від +2 °С до +8 °С. Термін придатності вказаний на кожній упаковці.
Застереження:
• Лише для кваліфікованого використання.

Необхідні матеріали:
• Смужки КОЛІтест
• Стерильний фізіологічний розчин 0,5–1 мл в пробірках
• Термостат на 37 °С
• Довгохвильова УФ-лампа (360 нм)
• Реактив для теста Індол, кат. номер MLT00020
• Прилад Денсі-Ла-Метер II , кат. номер INS00062
Рекомендована процедура проведення дослідження:
• Використовувати КОЛІтест для колиформних бактерій і (або) грамнегативних оксидазонегативних паличок
• Приготувати 0,5–1 мл суспензії мікроорганізму в стерильному фізіологічному розчині
• Мутність суспензії має становити 3 од. за шкалою МакФарланда
• Помістити смужку КОЛІтест в пробірку із суспензією (паперова зона смужки має бути повністю занурена в суспензію)
• Інкубувати за температури 37 °С
Після 4-годинної інкубації:
• Зафіксувати результати глюкоронідазної реакції (GLR) за допомогою огляду в темному місці під ультрафіолетовою лампою (довжина хвилі 360 нм). При позитивній реакції спостерігається флуоресценція голубого кольору.
• В пробірку із суспензією додати 4–5 крапель Реактиву для теста Індол. При позитивній реакції з'являється червоне забарвлення.

Увага:
• Попередній результат тесту GLR можливий вже через 1 годину від початку термостатування.
Утилізація використаних матеріалів:
Використані смужки слід вважати потенційно інфікованим матеріалом, який підлягає знищенню у відповідності до чинних правил. Папір та інші пакувальні матеріали підлягають утилізації як макулатура або сортоване сміття.

Реакція	GLR (флюоресценція)	IND (кольорова реакція)	Примітка: GLR - тест на β-глокоронідазу IND - тест на вироблення індолу
Позитивна	флюоресценція голубого кольору	червоне, рожеве забарвлення	
Негативна	флюоресценція відсутня	жовте, жовтувате забарвлення	

Рекомендації:
• Перед постановкою тесту перевірити порожні пробірки під УФ-лампою на відсутність флюоресценції.
• З кожного серією досліджень ставити контроль, для цього смужку КОЛІтест занурити у використований фізіологічний розчин і інкубувати в термостаті разом із досліджуваними зразками. При постановці негативного контролю флюоресценція повинна бути відсутня.
• Для перевірки функціональності КОЛІтест рекомендовано використовувати контрольні штами мікроорганізмів (див. Таблицю нижче).

Оцінка результатів:
Для типових штамів кишкової палички: GLR+IND+.
Для деяких штамів кишкової палички можливі результати GLR-IND+ або GLR+IND-, такі штами підлягають подальшій ідентифікації. Реакція GLR-IND+ є типовою для *E.coli* O157 H:7.

Примітка:
• Близько 95 % штамів *Escherichia coli* дають позитивні результати тесту GLR, позитивний тест на вироблення індолу підвищує вірогідність вдалої ідентифікації *Escherichia coli*.
• КОЛІтест придатний для ідентифікації деяких інших груп мікроорганізмів, зокрема для визначення β-глокоронідазної активності стафілококів та інших груп.

Штам	CCM	ATCC	GLR	IND
Escherichia coli	3988	10536	+	+
Serratia marcescens	303	13880	-	-

CCM: Чеська колекція мікроорганізмів

UA

Уповноважений представник в Україні:
ТОВ „ЕРБА ДІАГНОСТИКС УКРАЇНА“
01042, Київ, вул. ЮННА ПАВЛА II, буд. 21, офіс 401
тел. +38-050-4483456
ukraine@erbamannheim.com

Дата проведення контролю: 13. 8. 2020