



Návod k použití - Latex *E. coli* 0157

Souprava je určena k identifikaci O antigenů enteropatogenních bakterií *E. coli* O157 v primárních bakteriálních kulturách.

Složení soupravy

Latexové činidlo <i>E. coli</i> O157	1 x 5 ml
Kontrolní latex	1 x 5 ml
Kontrolní antigen	1 x 1 ml
Skleněná destička s vyznačenými poli	1 ks
Umělohmotné míchací tyčinky	200 ks

Lahvičky jsou opatřeny uzávěrem s kapátkem umožňujícím dávkování kapek o objemu 25-27 μ l.

Provedení testu

Latexový test provádíme ve dvou etapách: v první etapě s polyvalentními činidly skupin A, B, a C, v druhé etapě s činidly monovalentními té skupiny, ve které byla v první etapě získána pozitivní reakce.

Příprava vzorků k vyšetření

K izolaci kolonií enteropatogenních *E. coli* používáme běžně kultury na půdách MacConkey se sorbitolem, MacConkey se sorbitolem a teluritem draselným, nebo MacConkey se sorbitolem, teluricitanem draselným a cefiximem. Po 18-20 hodinách doporučujeme izolovat 10 „sorbitol-negativních“ kolonií.

V některých laboratořích je prováděno úspěšné testování dle následujícího postupu:

Získaný materiál očkujeme zároveň na peptonovou vodu s tryptofanem (připravenou dle níže uvedeného rozpisu) a také na půdu s malonátem sodným. Po 18 až 20 hodinách inkubace odečteme výsledky z malonátu a k provedení latexového testu vybereme pouze vzorky „malonát-negativní“. Vybrané kultury z peptonové vody ohříváme ve vařící vodní lázni po dobu 15 min. (bez přidávání Ehrlichova činidla). Po zahřátí kulturu promícháme, ochladíme na pokojovou teplotu a provedeme s ní latexový test.

Po provedení latexového testu přidáváme ještě ke každé kultuře na peptonové vodě Ehrlichovo činidlo, abychom zjistili přítomnost indolu.

Průběh vyšetření

Latexová činidla vyjmeme z chladničky pouze na dobu nezbytně nutnou k jejich ohřevu na pokojovou teplotu a bezprostředně před použitím je dobře protřepeme.

Na vymezená políčka sklíčka nanese pipetou 25 μ l vzorku zkoumané kultury a následovně ke každému vzorku postupně přikápneme pomocí kapátka ve víčku lahvičky 1 kapku (25 μ l) latexového činidla a kontrolního latexu.

Po důkladném promíchání reagentů umělohmotnou tyčinkou umístíme vzorky na horizontální třepačku a necháme třepat 3 minuty při 120 cyklech /min. (při menším počtu vzorku lze promíchávání provést i ručně).

Výsledky a jejich interpretace

Výsledky se odečítají dle dohodnuté 6-ti bodové škály:

- 5 hrubě zrnitá aglutinace, aglutináty rozmístěné v celé kapce nebo po jejím obvodu
- 4 intenzivní drobnozrnitá aglutinace 100 % latexových částic
- 3 drobnozrnitá aglutinace více než 50% latexových částic, v kapce je možno pozorovat zkalení



- 2 aglutinace méně než 50% latexových částic, výslovné zkalení kapky
- 1 stopy aglutinační reakce
- 0 latex homogenně zkalený

Za diagnosticky významnou je považována reakce hodnocena minimálně 2 až 3 body, k níž došlo po 3 minutovém třepání vzorku.

Významná pozitivní aglutinační reakce s činidlem *E. coli* O157 při negativní reakci s kontrolním latexem svědčí o příslušnosti izolované kultury do skupiny *E. coli* O157.

Upozornění

Aktivitu činidel je nutno občas ověřit odpovídajícím kontrolním antigenem.

Činidla je nutno přechovávat při teplotě od 2 do 8° C. Chránit před zmrznutím!

Expirační doba je 12 měsíců od data výroby.

Doporučené složení peptonové vody:

Pepton Triptone DIFCO nebo OXOID	10 g
NaCl	5 g
D, L - Tryptofan	1 g
Destilovaná voda	1000 ml

Při použití Pepton Tryptone jiných výrobců než DIFCO nebo OXOID bývají nespecifické aglutinační reakce s latexovými činidly.

Příprava půdy:

Rozpustíme složky v destilované vodě, upravíme pH na 7,4 - 7,5, přefiltrujeme přes filtrační papír a rozlijeme po 2 ml do zkumavek. Sterilizujeme 20 min. při teplotě 121° C.