

PROLEX™ *E. coli*-O157 LATEX-REAGENZ-TESTSATZ



pro-lab.com/resources

PL.070B



50

PL.071B



100

REF PL.070B

REF PL.071B

REF PL.076B

GEBRAUCHSANWEISUNG

VORGESEHENE VERWENDUNG

Der Prolex™ *E. coli*-O157-Latex-Reagenz-Testsatz ist ein Agglutinationstestsatz für die präsumptive Identifizierung von *Escherichia coli*-Serogruppe O157.

ÜBERSICHT UND ERKLÄRUNG

Escherichia coli Serotyp O157:H7 ist ein Schiga-Toxin bildendes Pathogen.^{1,2} Dieser Serotyp wurde bei sporadischen Fällen und Ausbrüchen der hämorrhagischen Colitis als ätiologischer Wirkstoff dokumentiert.^{3,4,5} Er wird auch mit dem hämolytisch-urämischem Syndrom in Verbindung gebracht.⁶ Einige andere *E. coli*-Serotypen als der Serotyp O157:H7 bilden ebenfalls das Schiga-Toxin.^{7,8,9} Jedoch ist der von diesen anderen Serotypen verursachte Durchfall in der Regel nicht blutig. Des Weiteren fermentiert *E. coli* Serotyp O157:H7 kein Sorbitol, wohingegen die meisten anderen Serotypen es tun.^{10,11} Wenn also Sorbitol- MacConkey-Agar als Primärbildschirm verwendet wird, erscheinen die Kolonien von *E. coli* Serotyp O157:H7 farblos (Sorbitol nicht-fermentierende Kolonien [NSFC]), während die Kolonien der anderen Serotypen in typischem Pink erscheinen (Sorbitol fermentierende Kolonien [SFC]).¹¹

TESTPRINZIP

Die blauen Polystyrol-Latexpartikel, die im Testsatz verwendet werden, sind mit einem Antikörper gegen das somatische Antigen von *E. coli* O157 beschichtet. Wenn diese Latexpartikel mit frischen Kolonien von *E. coli* Serogruppe O157 vermischt werden, werden sich die Bakterien mit dem Antikörper verbinden und dafür sorgen, dass die Latexpartikel agglutinieren (positive Reaktion). Die Bakterien, die kein *E. coli* O157 sind, werden sich nicht mit dem Antikörper verbinden und werden nicht agglutinieren (negative Reaktion).

GELIEFERTE MATERIALIEN

Der Testsatz PL.070B reicht für 50 Tests. Der Testsatz PL.071B reicht für 100 Tests. Die Materialien werden gebrauchsfertig geliefert.

- Prolex™ *E. coli* O157-Latex-Reagenz (PL.072B / PL.073B): Eine Tropfflasche mit 3,1 ml (PL.070B) oder 6,2 ml (PL.071B) Latexpartikeln, die mit gereinigtem Rabbit-IgG beschichtet sind, das mit *E. coli* Serogruppe O157 reagiert. Die Latexpartikel werden in einem Puffer mit 0,098 % Natriumazid als Konservierungsmittel suspendiert.
- Prolex™ *E. coli* O157-Positivkontrolle (PL.074B / PL.075B): Eine Tropfflasche mit 1,5 ml (PL.070B) oder 3,0 ml (PL.071B) von der Suspension der Positivkontrolle mit dem Antigen von *E. coli* Serotyp O157:H7, das durch die Ernte und das Inaktivieren der Kolonien von *E. coli* Serotyp O157:H7 erzeugt wird, die auf dem Agarmedium gewachsen sind. Das Antigen wird in einem Puffer mit 0,098 % Natriumazid als Konservierungsmittel suspendiert.
- Prolex™ *E. coli* O157-Latex-Reagenz der Negativkontrolle (PL.077B / PL.076B): Eine Tropfflasche mit 1,5 ml (PL.070B) oder 3,0 ml (PL.071B) Latexpartikeln, die mit gereinigtem Rabbit-IgG beschichtet sind, das nicht mit *E. coli* Serogruppe O157 reagiert. Die Latexpartikel werden in einem Puffer mit 0,098 % Natriumazid als Konservierungsmittel suspendiert.
- Testkarten
- Rührstäbchen

BENÖTIGTE ABER NICHT GELIEFERTE MATERIALIEN

- Physiologische Kochsalzlösung (0,85 % Natriumchlorid) oder phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS)
- McFarland-Standard 3.0, 4.0 oder 5.0
- 12 x 75mm-Reagenzgläser

- Impfhaken oder Nadel
- Pasteurpipetten

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Die Reagenzien sollten bei 2-8 °C gelagert werden. Die unter solchen Bedingungen gelagerten Reagenzien werden bis zu dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum haltbar sein. Nicht einfrieren.

WARNUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN

1. nur für die Verwendung zur In-vitro-Diagnostik bestimmt.
2. Die Reagenzien dürfen nach dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum nicht mehr verwendet werden.
3. Die Reagenzien enthalten < 0,098 % Natriumazid. Natriumazid kann mit Rohrleitungen aus Kupfer oder Blei explosionsartig reagieren, wenn es sich ansammelt. Obwohl die Natriumazid-Menge in den Reagenzien minimal ist, sollten große Wassermengen verwendet werden, wenn die Reagenzien den Abfluss hinuntergespült werden.
4. Bei der Handhabung, Verarbeitung und Entsorgung aller klinischen Proben sind allgemeine Vorsichtsmaßnahmen zu treffen. Alle Testmaterialien sollten während der Verwendung als potenziell infektiös betrachtet werden, und nach der Verwendung sollten allgemeine Vorsichtsmaßnahmen beachtet werden. Die Materialien sind entsprechend zu handhaben und zu entsorgen. Die Latex-Reagenzien nicht verwenden, wenn Autoagglutination sichtbar ist. Dies würde als Agglutination des Prolex™ *E. coli* O157-Latex-Reagenz in Abwesenheit eines Testisolats oder Agglutination vom Latex-Reagenz der Negativkontrolle in Abwesenheit eines Antigens der Positivkontrolle oder des Testisolats erscheinen.
5. Die in dieser Anweisung genannten Verfahren, Lagerbedingungen, Vorsichtsmaßnahmen und Beschränkungen müssen befolgt werden, um gültige Testergebnisse zu erhalten.
6. Reagenzien enthalten von Tieren stammende Materialien und sollten als potentielle Träger und Überträger von Krankheiten behandelt werden.

HERSTELLUNG VON KULTUREN

Die klinischen Proben sollten auf Sorbitol-MacConkey-Agar gezüchtet werden. Die Sorbitol nicht-fermentierenden Kolonien (NSFC) können direkt oder von einer Subkultur auf einem nichtselektiven Agarmedium getestet werden. Die Kolonien einer Übernachtskultur (18-24 Std.) müssen sauber mittels einer sterilen Öse oder Nadel von der Agaroberfläche zum Testen entfernt werden. Junge, schnell wachsende Kulturen liefern normalerweise die besten Ergebnisse.

PRÜFVERFAHREN

1. Warten Sie, bis die Reagenzien Zimmertemperatur erreicht haben, bevor Sie sie verwenden.
2. Das Latexreagenz durch mehrmaliges vorsichtiges Umdrehen der Tropfflasche resuspendieren. Vor Gebrauch die Tropfflaschen überprüfen, um sicherzustellen, dass die Latexpartikel ordnungsgemäß suspendiert sind. Nicht verwenden, wenn sich das Latex nicht resuspendieren lässt.
3. Geben Sie mittels einer Pipette 0,2 ml der physiologischen Kochsalzlösung in ein 12 x 75 mm-Reagenzglas.
4. Nehmen Sie ausreichend Kolonien von der Platte mit einer sterilen Öse oder Nadel auf und suspendieren Sie sie in der Kochsalzlösung, um eine Trübung gemäß einem 3-5-McFarland-Standard zu erreichen.
5. Geben Sie einen Tropfen des Prolex™ *E. coli* O157-Latex-Reagenz in einen Testkreis auf einer der mitgelieferten Testkarten. Geben Sie mittels einer Pasteurpipette einen Tropfen der Testsuspension in denselben Testkreis und verrühren Sie sie mit Hilfe eines der mitgelieferten Rührstäbchen.
6. Schütteln Sie die Karte leicht und prüfen Sie sie bis zu zwei Minuten lang auf Agglutination.
7. Isolate, die mit dem Prolex™ *E. coli* O157 Latex Reagent ein positives Ergebnis erzielen, müssen weiter getestet werden, indem der Vorgang mit dem Prolex™-Latex-Reagenz der Negativkontrolle wiederholt wird.

QUALITÄTSÜBERWACHUNGSVERFAHREN

Das Prolex™ *E. coli* O157-Latex-Reagenz und das Prolex™-Latex-Reagenz der Negativkontrolle müssen mit der Prolex™-Positivkontrolle getestet werden, bevor die Testisolate verwendet werden. Es muss innerhalb von zwei Minuten eine Agglutination mit dem Prolex™ *E. coli* O157-Latex-Reagenz erreicht werden, und keine Agglutination mit dem Prolex™-Latex-Reagenz der Negativkontrolle.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Prolex™ *E. coli* O 157 - Latex- Testreagenzien und der Prolex™ *E. coli* O 157 - sind wie nachstehend auszuwerten:

| <i>E. coli</i> O157 Latex Reagenz | Negativkontrolle Latex-reagenz | Auswertung |
|--|---|---|
| - | - | Vermutung auf <i>E. Coli</i> O157 |
| ++ | + | Nicht eindeutiges Ergebnis |
| - | Nicht durchgeführt | Zeigt das Nichtvorhandensein von <i>E. coli</i> O157 an. |
| faseriges oder schleimiges Aussehen | Nicht durchgeführt | Nicht auswertbar |

Positives Ergebnis: Sichtbare Agglutination der blauen Latex-Partikel innerhalb von zwei Minuten.

Negatives Ergebnis: Keine Agglutination innerhalb von zwei Minuten.

Nicht eindeutig: Sichtbare Agglutination der Latexpartikel mit der Probe wird wie folgt interpretiert: *E. coli* O157-Latexreagenz und das negative Kontroll-Latexreagenz weisen auf einen agglutinierenden oder kreuzreagierenden Stamm hin. Führen Sie weitere Tests durch, um *E. coli* O157 auszuschließen.

Nicht auswertbar: Fadenförmiges oder schleimiges Erscheinungsbild mit dem *E. coli* O157-Latex-Reagenz. Frische Suspension der Kolonien in normaler Kochsalzlösung oder phosphatgepufferter Kochsalzlösung herstellen und Klumpen absetzen lassen. Überstand erneut testen.

GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Prüfen Sie nur die Kolonien, die auf dem Sorbitol-MacConkey-Agar (Sorbitol nicht-fermentierend) eine typische Koloniemorphologie zeigen.
2. Die positiven Testergebnisse sollten mittels einer biochemischen Routineprüfung bestätigt werden.
3. Dieses Reagenz wurde entwickelt, um das Vorhandensein des Antigens von
4. *E. coli* Serogruppe O157 festzustellen. Einige andere Stämme von *E. coli* O157 (z. B. O157:H16), die kein Sorbitol fermentieren, liefern bei diesem Test eben- falls ein positives Ergebnis. 1, 12, 13
5. Obwohl dieser Test speziell dafür entwickelt wurde, um die normale Kreuzreaktivität von *Escherichia hermannii* (12) zu reduzieren, können seltene Stämme kreuzreagieren.

GEBRAUCHSEIGENSCHAFTEN












Die klinische Leistung des Prolex™ *E. coli* O157-Testsatzes wurde in einem mikrobiologischen Krankenhauslabor bewertet. Es wurden blutige Stuhlproben von 474 Patienten, bei denen Durchfall, hämorrhagische Colitis oder das hämolytisch-urämische Syndrom diagnostiziert wurden, gezüchtet. Von diesen 474 Proben haben 47 Proben Sorbitol-negative Kolonien produziert und wurden mit einem kommerziell erhältlichen Latextest positiv auf *E. coli* Stamm O157 getestet. Diese Ergebnisse wurden mit einer herkömmlichen biochemischen Prüfung bestätigt. Alle 47 Isolate hatten ein positives Ergebnis, als sie mit dem Prolex™ *E. coli* O157-Latex-Reagenz-Testsatz getestet wurden (47/47 = 100 % Empfindlichkeit).

LITERATURHINWEISE

1. Konowalchuk J., Speirs J.I., Stavric S. 1977. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. Infect. Immun. 18:775-779.
2. Ratnam S., March S.B., Ahmed R., Bezanson G.S., Kasatiya S. 1988. Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7. J. Clin. Microbiol. 26:2006-2012.
3. C.D.C. 1982. Isolation of *E. coli* O157:H7 from sporadic cases of hemorrhagic colitis. United States MMRW 31:580-585.
4. Johnson W.M., Lior H., Bezanson G.S. 1983. Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 associated with haemorrhagic colitis in Canada. Lancet i:76.
5. Krishnan C., Fitzgerald V., Dakin S., Behme R.J. 1987. Laboratory investigation of outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. J. Clin. Microbiol. 25:1043-1047.
6. Karmali M.A., Steele B.T., Petric M., Lim C. 1983. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. Lancet. i:619-620.
7. Karmali M.A., Petric M., Lim C., Cheung R., Arbus G.S. 1985. Sensitive method for detecting low numbers of verotoxin-producing *Escherichia coli* in mixed cultures by use of colony sweeps and polymyxin extraction of verotoxin. J. Clin. Microbiol. 22:614-619.

8. Law D. 1988. Virulence factors of enteropathogenic *Escherichia coli*. J. Med. Microbiol. 26:1-10.
9. Scotland S.M., Day N.P., Rowe B. 1980. Production of a cytotoxin affecting vero cells by strains of *Escherichia coli* belonging to traditional enteropathogenic serogroups. FEMS Microbiol. Lett. 7:15-17.
10. Farmer III J.J., Davis B.R. 1985. H7 Antiserum-sorbitol fermentation medium: a single tube screening medium for detecting *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J. Clin. Microbiol. 22:620-625.
11. March S.B., Ratnam S. 1986. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J. Clin. Microbiol. 23:869-872.
12. Borczyk A., Lior H., Cebin B. 1987. False positive identification of *Escherichia coli* in foods. Int. J. Food Microbiol. 4:347-349.
13. Thompson J.S., Hodge D.S., Borczyk A.A. 1990. Rapid biochemical test to identify verocytotoxin-positive strains of *Escherichia coli* serotype O157. J. Clin. Microbiol. 28:2165-2168.

SYMBOLVERZEICHNIS

| Symbol | Bedeutung |
|---|--|
|  | Hersteller |
|  | Haltbarkeitsdatum |
|  | Chargennummer |
|  | Artikelnummer |
|  | Temperaturbegrenzung |
|  | Siehe Gebrauchsanweisung oder elektronische Gebrauchsanweisung |
|  | In-vitro-Diagnostikum |
|  | Ausreichend für <n> Tests |
|  | Kennzeichnet die Europäische Konformität |
|  | Kennzeichnet die Britische Konformität |
|  | Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft / Europäischen Union |

Die Anleitung wurde professionell aus dem Englischen übersetzt. Bei Fragen oder Unstimmigkeiten wenden Sie sich bitte an den Pro-Lab-Kundendienst.

Pro-Lab Diagnostics U.K.

3 Bassendale Road, Bromborough,
Wirral, Merseyside CH62 3QL
United Kingdom
Tel.: 0151 353 1613
www.pro-lab.co.uk
E-mail: uksupport@pro-lab.co.uk



Pro-Lab Diagnostics Canada

20 Mural Street, Unit #4
Richmond Hill, Ontario L4B 1K3
Canada
Tel.: 905-731-0300
www.pro-lab.com
E-mail: support@pro-lab.com

Pro-Lab Diagnostics U.K.

3 Bassendale Road,
Bromborough, Wirral,
Merseyside CH62 3QL United
Kingdom
Tel.: 0151 353 1613
www.pro-lab.co.uk
E-mail: uksupport@pro-lab.co.uk



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Floor, Tower Street, Swata, BKR 4013 Malta