

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-urämischen 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).

GELIEFERTER MATERIALIEN

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
- Gebrauchsanweisung

BENÖTIGTE ABER NICHT GELIEFERTER MATERIALIEN

- Physiologische Kochsalzlösung
- 12 x 75 mm-Reagenzgläser
- Impföse oder Impfnadel
- Pasteurpipetten

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

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

VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Der Satz ist 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 $\leq 0,098$ % 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. Die Proben und Reagenzien sollten als möglicherweise ansteckend angesehen werden, und bei der Durchführung des Tests sollten allgemeine Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden.
5. 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.
6. Die in dieser Anweisung genannten Verfahren, Lagerbedingungen, Vorsichtsmaßnahmen und Beschränkungen müssen befolgt werden, um gültige Testergebnisse zu erhalten.
7. Einige 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.

PRÜFPROTOKOLL

1. Warten Sie, bis die Reagenzien Zimmertemperatur erreicht haben, bevor Sie sie verwenden.
2. Geben Sie mittels einer Pipette 0,2 ml der physiologischen Kochsalzlösung in ein 12 x 75 mm-Reagenzglas.
3. Nehmen Sie mittels einer sterilen Öse oder Nadel ausreichend Kolonien von der Platte auf und suspendieren Sie sie in der Kochsalzlösung, um eine Trübung gemäß einem 3-5-McFarland-Standard (Trübungsstandard) zu erreichen.
4. 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.
5. Schütteln Sie die Karte leicht und prüfen Sie sie bis zu zwei Minuten lang auf Agglutination.
6. Isolate, die mit dem Testlatex 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

1. Die nachstehende Tabelle zeigt, wie die mit den Prolex™ E. coli O157-Latex-Reagenzien und der Prolex™ E. coli O157-Positivkontrolle erhaltenen Ergebnisse ausgewertet werden sollten:

O157 LATEX REAGENZ	NEGATIVKONTROLLE LATEX-REAGENZ	BEMERKUNGEN
+	-	Die Leistung des Satzes ist zufriedenstellend.
-	-	Die Potenz ist zu niedrig. Entsorgen Sie die Reagenzien.
+	+	Autoagglutination: Entsorgen Sie die Reagenzien

2. Die Agglutination der Latex-Reagenzien mit den Proben wird wie unten dargestellt ausgewertet:

O157 LATEX REAGENZ	NEGATIVKONTROLLE LATEX-REAGENZ	BEMERKUNGEN
+	-	Präsumptiv für <i>E. coli</i> Serogruppe O157.
+	+	Autoagglutinierender oder kreuzreagierender Stamm vorhanden. Führen Sie weitere Tests durch, um <i>E. coli</i> O157 auszuschließen.
-	nicht durchgeführt	Zeigt das Fehlen von <i>E. coli</i> Serogruppe O157.
zähes oder schleimartiges Aussehen	nicht durchgeführt	Nicht auswertbar. Fertigen Sie eine frische Suspension der Kolonien in der Kochsalzlösung an und warten Sie, bis sich die Klumpen absetzen. Prüfen Sie den Überstand erneut.

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 *E. coli* Serogruppe O157 festzustellen. Einige andere Stämme von *E. coli* O157 (z. B. O157:H16), die kein Sorbitol fermentieren, liefern bei diesem Test ebenfalls ein positives Ergebnis.^{1,12,13}
4. 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-Satz 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.

	= Hersteller
	= Autorisierter Repräsentant in der Europäischen Gemeinschaft
	= Enthält genügend (Material) für (n) Tests
	= Medizinprodukt für die in vitro Diagnostik.
	= Temperaturbegrenzung
	= Beachten Sie die Gebrauchsanleitung

Bei diesen Anleitungen handelt es sich um eine Fachübersetzung der englischen Originalversion. Bei Unklarheiten oder offensichtlichen Abweichungen wenden Sie sich bitte an Pro-Lab.