

VERWENDUNGSZWECK

Das *E. coli* O157-Antiserum von Pro-Lab ist zur Verwendung im Objektträger-Agglutinationstest zur präsumptiven Identifizierung von *Escherichia coli* Serotyp O157-Antigen auf Laboranzuchtmedien bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Escherichia coli-Bakterien vom Serotyp O157:H7 sind Verotoxin (VT)-produzierende Pathogene.^{1,2} Dieser Serotyp gilt als ätiologisches Agens bei sporadischen Fällen und bei Massenaufreten einer hämorrhagischen Kolitis.^{3,4,5} Er ist außerdem assoziiert mit dem hämolytisch-urämisches Syndrom.⁶ Verotoxin wird außer von O157:H7 auch von anderen *E.coli*-Serotypen produziert.^{7,8,9} Diese anderen Serotypen rufen in der Regel jedoch keine blutige Diarrhö hervor. Darüber hinaus fermentiert die Mehrzahl der anderen *E.coli*-Serotypen Sorbitol, während dies beim Serotyp O157:H7 nicht der Fall ist.^{10,11} Bei Verwendung von Sorbitol-MacConkey-Agar als primäres Testmedium erscheinen Kolonien von *E.coli*-Bakterien des Serotyps O157:H7 daher farblos (NSFK – nicht Sorbitol-fermentierende Kolonien), während Kolonien anderer Serotypen eine charakteristische rosa Farbe annehmen (SKF-Sorbitol-fermentierende Kolonien).¹¹

Die Arbeiten von Kauffmann¹², Edward und Ewing¹³, Ewing¹⁴ und Orskov¹⁵ trugen zur Entwicklung eines Systems zur serologischen Typisierung von *E.coli*-Kulturen bei und führten zu einem Antigen-Klassifizierungsschema, das zur Identifizierung der Serotypen von *Escherichia coli* herangezogen werden kann, die mit Bakteriurie oder Durchfallerkrankungen assoziiert sind.

Das Prinzip dieses Tests umfasst das Mischen des verdächtigen Organismus mit dem Antiserum, das Antikörper gegen *E.coli* O157 enthält. Bei Vorhandensein von homologem Antiserum kommt es zu einer Agglutination (Verklumpung) der Bakterien.

REAGENZIEN:

Das *E. coli* O157-Antiserum von Pro-Lab wird aus lipidfreiem, absorbiertem Vollserum aus Kaninchen hergestellt, das Antikörper gegen den *E. coli* Serotyp O157 enthält.

Das Antiserum ist zur präsumptiven Identifizierung bzw. Bestätigung von Kulturen bestimmt, die zuvor biochemisch charakterisiert worden sind.

Das *E. coli* O157-Antiserum von Pro-Lab befindet sich in einem Tropfenspender mit 3,0 ml gebrauchsfertigem, verdünntem Antiserum und 0,01% Thimerosal als Konservierungsmittel.

VORSICHTSHINWEISE

1. Das Antiserum nach Ablauf des auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr einsetzen.
2. Das Antiserum enthält Thimerosal, ⚠ eine hochgiftige, quecksilberhaltige Verbindung. Obgleich das Antiserum nur minimale Mengen Thimerosal enthält, sollten beim Umgang mit dem Reagenz und bei dessen Einsatz und Entsorgung entsprechende Sicherheitsmaßnahmen eingehalten werden.
3. Das Reagenzfläschchen darf nicht kontaminiert werden.
4. Die Testproben können Organismen enthalten, die für den Menschen pathogen sind, und sollten deshalb als infektiöses Material angesehen und entsprechend behandelt werden.
5. Das Reagenz ist ausschließlich für den Einsatz in der *in-vitro*-Diagnostik konzipiert.
6. Alle in dieser Testanleitung enthaltenen Hinweise zur Testdurchführung und -aufbewahrung sowie zu Vorsichtsmaßnahmen und Verfahrenseinschränkungen müssen genau befolgt werden, um gültige Ergebnisse zu erzielen.
7. Das Produkt enthält Materialien tierischer Herkunft und sollte wie ein potenzieller Träger und Überträger von Krankheiten gehandhabt werden.

ERFORDERLICHE, ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN

- Glasobjektträger
- Physiologische Kochsalzlösung (0,85% Natriumchlorid-Lösung).
- Einweg-Impfösen oder Impfösen aus Draht.
- Zahnstocher

STABILITÄT UND LAGERUNG

Das *E. coli* O157-Antiserum von PRO-LAB muss gut verschlossen bei 2-8°C aufbewahrt werden. Unter diesen Bedingungen ist es bis zum auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum haltbar.

PROBENGEWINNUNG UND ANZUCHT

Die Anzucht klinischer Proben sollte auf Sorbitol-MacConkey-Medium erfolgen. NSCF kann auf nicht-selektivem Agarmedium subkultiviert werden. Für den Test müssen Kolonien aus einer Übernachtskultur mithilfe einer sterilen Öse sauber von der Agaroberfläche entfernt werden. Die charakteristischsten Testergebnisse werden mit jungen, schnell wachsenden Kulturen erhalten.

VERFAHREN

1. Geben Sie zwei einzelne Tropfen physiologische Kochsalzlösung (0,85% Natriumchlorid) auf einen sauberen Objektträger.
2. Entnehmen Sie aus einer Übernachtskultur eine mutmaßliche *E.coli*-Kolonie und mischen Sie diese gründlich mit beiden Tropfen der physiologischen Kochsalzlösung auf dem Objektträger, um eine glatte Suspension zu erhalten.
3. Geben Sie zu einem der beiden Tropfen mit Bakteriensuspension auf dem Objektträger einen Tropfen

Antiserum und zu dem anderen Tropfen (Kontrolle) einen Tropfen physiologische Kochsalzlösung.

4. Mischen Sie das Antiserum und die Bakteriensuspension mit einem Zahnstocher. Mischen Sie dann mit einem frischen Zahnstocher die Kochsalzlösung (Kontrolle).
5. Schwenken Sie den Objektträger eine Minute lang vorsichtig und beobachten Sie unter normalen Lichtverhältnissen oder in einem schwach vergrößerndem Objektiv, ob es zu einer Agglutination kommt.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Eine deutliche sichtbare Agglutination (granuläre Verklumpung) im Antiserumtest innerhalb von 60 Sekunden gilt als positives Ergebnis. In der Kontrolle darf keine Agglutination vorhanden sein, sonst ist der Test ungültig (Autoagglutination).

VERFAHRENS-EINSCHRÄNKUNGEN

1. In jedem Test sollte eine Kontrolle mit physiologischer Kochsalzlösung mitgeführt werden, um die Spezifität der Reaktion zu gewährleisten.
2. Raue Stämme führen bei Objektträgertests zu einer Autoagglutination. Dabei kommt es in der Kontrolle mit der Kochsalzlösung zu einem falsch positiven Ergebnis.
3. Es empfiehlt sich, die Wirksamkeit des *Escherichia coli*-Antiserums anhand von Stammkulturen mit bestimmter Antigenstruktur zu überprüfen.






LITERATUR

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 *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* 0157: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* 0157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J. Clin Microbiol. 23:869-872.
12. **Kauffmann, F.** 1947. J. Immunology 57:71-100.
13. **Edwards, P.R. and Ewing, W.H.** 1972. Identification of Enterobacteriaceae. 3, Auflage. Burgess. Minneapolis, Minnesota.
14. **Ewing, W.H.** 1969. Public Health Lab. 27:19-30.
15. **Orskov, F.** 1956. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. 29:373.

	= Hersteller
	= Autorisierter Repräsentant in der Europäischen Gemeinschaft
	= 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.