

BEOOGD GEBRUIK

Pro-Lab *E. coli* 0157 Antiserum is voor gebruik in de agglutinatietest op objectglaasje voor de presumptieve identificatie van *Escherichia coli* serotype 0157 antigeen op laboratoriumkweekmedia.

SAMENVATTING EN VERKLARING

Escherichia coli serotype 0157:H7 is een verotoxine-producerend (VT-producerend) pathogeen.^{1,2} Dit serotype is gemeld als een etiologisch agens bij sporadische en uitbraakgevallen van hemorragische colitis.^{3,4,5} Het is ook in verband gebracht met hemolytisch uremisch syndroom.⁶ Bepaalde *E. coli* serotypen anders dan 0157:H7 produceren ook verotoxine.^{7,8,9} De door deze andere serotypen veroorzaakte diarree is gewoonlijk echter niet bloederig. Bovendien fermenteert *E. coli* serotype 0157:H7 geen sorbitol terwijl de meerderheid van andere serotypes wel sorbitol fermenteert.^{10,11} Daarom, wanneer Sorbitol-MacConkey-agarmedium wordt gebruikt als een primaire selectie, komen de koloniën van *E. coli* serotype 0157:H7 kleurloos voor (niet-sorbitol fermenterende koloniën - NSFC) terwijl koloniën van andere serotypes karakteristiek roze voorkomen (sorbitol-fermenterende koloniën - SFC).¹¹

Het werk van Kauffmann¹², Edward en Ewing¹³, Ewing¹⁴ en Orskov¹⁵ heeft bijgedragen aan de ontwikkeling van een systeem voor serologische typering van *E. coli*-kweken en resulteerde in een anti-geenclassificatieschema dat gebruikt kan worden voor het identificeren van de serotypes van *Escherichia coli* die in verband worden gebracht met bacteriurie of diarreeziekte.

Het principe van de test omvat het mengen van de verdachte organismen met de antiserum-bevattende *E. coli* 0157 antilichamen. De bacteriën gaan agglutineren (klonteren) in aanwezigheid van homolog antiserum.

REAGENTIA

Pro-Lab *E. coli* 0157 Antiserum wordt geprepareerd met behulp van gedelipidiseerd, volledig geabsorbeerd konijnserum bevattende antilichamen tegen *E. coli* serotype 0157.

Het antiserum dient gebruikt te worden voor de presumptieve identificatie of bevestiging van kweken die eerder biochemisch zijn gekenmerkt Pro-Lab *E. coli* 0157 Antiserum wordt geleverd in een druppelflesje dat 3,0 ml gebruiksklaar verdund antiserum met 0,01% thiomersal als conserveringsmiddel.

VOORZORGSMAATREGELEN

1. Antiserum niet gebruiken na de op het productlabel vermelde uiterste gebruiksdatum.
2. Het antiserum bevat thiomersal, hetgeen een uiterst toxische verbinding op kwikbasis is. Hoewel de hoeveelheid thiomersal in het antiserum minimaal is, dient men voorzorgsmaatregelen te treffen bij het hanteren, verwerken en weg gooien van het reagens.

3. Verontreiniging van het reagensflesje.
4. Er dienen universele voorzorgsmaatregelen te worden genomen bij het hanteren, verwerken en weggooien van alle klinische specimens. Alle testmaterialen dienen te worden gezien als mogelijk infectieus tijdens en na gebruik en dienen op de juiste wijze te worden gehanteerd en opgeruimd.
5. Het reagens is uitsluitend bedoeld voor diagnostisch gebruik *in vitro*.
6. Voor het verkrijgen van geldige testresultaten dient men zich te houden aan de procedures, opslagcondities, voorzorgsmaatregelen en beperkingen gespecificeerd in deze richtlijnen.
7. Het product bevat materiaal van dierlijke oorsprong en dient behandeld te worden als mogelijke drager en overbrenger van ziekten.

BENODIGD MAAR NIET GELEVERD MATERIAAL

- Glazen objectglaasjes
- Normale fysiologische zoutoplossing (0,85% natriumchloride-oplossing)
- Wegwerp- of draadlussen
- Tandenstokers

STABILITEIT EN OPSLAG

Pro-Lab *E. coli* 0157 Antiserum dient met de dop stevig vastgedraaid bij 2° tot 8° C bewaard te worden. Bewaard onder deze condities kan het antiserum tot aan de op het productlabel vermelde uiterste gebruiksdatum worden gebruikt.

AFNAME VAN MONSTERS EN PREPARATIE VAN KWEKEN

Klinische monsters moeten worden gekweekt op Sorbitol-MacConkey-medium. NSFC kan subgekweekt worden op niet-selectief agarmedium. Koloniën van een kweek gedurende de nacht moet voor het testen in zijn geheel worden verwijderd van het agaroppervlak met behulp van een steriele lus. Jonge, snelgroeiende kweken zullen typerende resultaten opleveren.

PROCEDURE

1. Plaats twee afzonderlijke druppels normale fysiologische zoutoplossing (0,85% natriumchloride) op een schoon objectglaasje.
2. Neem een verdachte *Escherichia coli* kolonie van een schaalte met een kweek van een hele nacht en meng grondig met beide druppels normale fysiologische zoutoplossing op het glaasje om een gladdesuspensie te krijgen.
3. Voeg één druppel antisera toe aan één van de bacteriële suspensiedruppels op het objectglaasje, voeg aan de andere (controle) één druppel normale fysiologische zoutoplossing toe.
4. Vermeng het antiserum met de bacteriële suspensie met behulp van een tandenstoker. Meng de fysiologische zoutoplossing (controle) met een nieuwe tandenstoker.
5. Schud het objectglaasje gedurende één minuut voorzichtig heen en weer en let op agglutinatie onder normale verlichting omstandigheden of met behulp van een laagstroomobjectief.

INTERPRETATIE VAN RESULTATEN

Een duidelijke agglutinatie (granulaire klontering) in de antiserumtest, binnen 60 seconden, wordt gezien als een positief resultaat. Er mag geen agglutinatie in de controle met fysiologische zoutoplossing voorkomen, anders is de test niet geldig (auto-agglutinatie).

BEPERKINGEN VAN DE PROCEDURE

1. Een controle met normale fysiologische zoutoplossing dient in elke test opgenomen te worden om de specificiteit van de reactie zeker te stellen.
2. Ruwe stammen geven auto-agglutinatie in tests met objectglaasjes. Foutpositieven agglutineren gewoonlijk in controle fysiologische zoutoplossing.
3. Het is raadzaam de sterkte van *Escherichia coli* antisera te controleren met voorraadkweken van bekende antigene structuren.

REFERENTIES

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 0157:H7. J. Clin. Microbiol. 26:2006-2012.
3. **C.D.C.** 1982. Isolation of *E. coli* 0157: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* 0157: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* 0157: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. 3rd edition. Burgess. Minneapolis, Minnesota.

14. **Ewing, W.H.** 1969. Public Health Lab. 27:19-30.

15. **Orskov, F.** 1956. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. 29:373.

	= Gebruiken voor
LOT	= Lotnummer
REF	= Catalogus nummer
	= Fabrikant
EC REP	= Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap
	= Enthält genügend (Material) für (n) Tests
IVD	= In vitro diagnostische medische test
	= Temperatuurbepanking
	= Raadpleeg de instructies voor gebruik

Deze gebruiksaanwijzing werd professioneel vertaald op basis van de originele Engelse versie. Neem contact op met Pro-Lab als de tekst niet eenduidig is of als u discrepanties vaststelt.