

PROLEX™ - E. coli O157 LATEX TEST REAGENT KIT
(pro *in vitro* diagnostické použití)

KATALOGOVÉ ČÍSLO: PL.070B (50 testů) a PL.071B (100 testů)

ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Prolex™ *E. coli* O157 Latex Reagent Kit je aglutinační testovací souprava pro předběžnou identifikaci antigenu *Escherichia coli* serotyp O157.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Escherichia coli serotyp O157:H7 je patogen produkující Shiga-toxin.^{1,2} Tento sérotyp je udáván jako etiologické agens u řídkých případech hemoragické kolitidy.^{3,4,5} Je spojována rovněž s hemolytickým uremickým syndromem.⁶ Určité serotypy *E. coli*, jiné než O157:H7, také produkují Shiga-toxin.^{7,8,9} Nicméně průjem způsobený těmito serotypy není obvykle s krví. Navíc *E. coli* serotyp O157:H7 nefermentuje sorbitol, přičemž většina ostatních serotypů ano.^{10,11} Proto při použití Sorbitol-MacConkey agarového média jako primárního síta se kolonie *E. coli* serotyp O157:H7 jeví jako bezbarvé (non-sorbitol fermentující kolonie - NSFC) zatímco kolonie ostatních serotypů jsou charakteristicky růžové (sorbitol fermentující kolonie - SFC).¹¹

PRINCIP TESTU

Modré polystyrenové latexové částice použité v soupravě jsou potaženy protilátkou proti somatickému antigenu *E. coli* O157. Když jsou tyto latexové částice smíchány s čerstvou kolonií *E. coli* séroskupiny O157, bakterie se naváží na protilátku a způsobí aglutinaci latexových částic (pozitivní reakce). Bakterie, které nejsou *E. coli* O157, se na protilátku nenaváží a neaglutinují (negativní reakce).

DODÁVANÝ MATERIÁL

- Prolex™ *E. coli* O157 Latex Reagencie (PL.072B/PL.073B):

Jedna lahvička s kapátkem obsahující 3.1 ml (PL.070B) nebo 6.2 ml (PL.071B) latexových částic potažených purifikovanými králičími IgG, které reagují s *E. coli* séroskupinou O157. Latexové částice jsou suspendovány v pufru obsahujícím 0.098% azid sodný jako konzervans.

- Prolex™ *E. coli* O157 pozitivní kontrola (PL.074B/PL.075B):

Jedna lahvička s kapátkem obsahující 1,5 ml (PL.070B) nebo 3.0 ml (PL.071B) suspenze pozitivní kontroly obsahující antigen *E. coli* serotyp O157:H7 produkovaný sesbíranými a inaktivovanými koloniemi *E. coli* serotyp O157:H7 narostlými na agarovém médiu. Antigen je suspendován v pufru obsahujícím 0.098% azid sodný jako konzervans.

- Prolex™ *E. coli* O157 Negative Control Latex Reagencie (PL.077B/PL.076B):

Jedna lahvička s kapátkem obsahující 1,5 ml (PL.070B) nebo 3.0 ml (PL.071B) latexových částic potažených purifikovanými králičími IgG, které nereagují s *E. coli* séroskupinou O157. Latexové částice jsou suspendovány v pufru obsahujícím 0.098% azid sodný jako konzervans.

- testovací kartičky
- míchací tyčinky
- návod k použití

POTŘEBNÝ, ALE NEDODÁVANÝ MATERIÁL

Fyziologický roztok

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

Testovací zkumavky 12x75 ml
Inokulační klička nebo jehla
Pasteurovy pipety

STABILITA A SKLADOVÁNÍ

Reagencie je třeba uchovávat při 2-8 °C. Reagencie uchovávané za těchto podmínek jsou stabilní až do uplynutí data expirace uvedeného na štítku. **Nezamrazujte.**

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Souprava je určena pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
2. Nepoužívejte reagencie po uplynutí data expirace uvedeného na štítku.
3. Reagencie obsahují $\leq 0,098$ % azidu sodného. Pokud se nahromadí, může s mědí nebo olovem reagovat explozivně. Ačkoliv je množství azidu sodného v reagentech minimální, při splachování použitých reagentů do umyvadla je třeba použít velkého množství vody.
4. Vzorky a reagencie je třeba považovat za potenciálně infekční a při provádění testu je třeba užívat univerzálních bezpečnostních opatření.
5. Nepoužívejte latexové reagencie pokud je viditelná autoaglutinace. Ta se může jevit jako aglutinace Prolex™ *E. coli* O157 latexové reagencie v nepřítomnosti testovaného izolátu nebo aglutinace negativní kontrolní latexové reagencie v přítomnosti pozitivního kontrolního antigenu nebo testovaného izolátu.
6. Aby výsledky testu byly platné, je třeba dodržovat postup, podmínky skladování a omezení specifikovaná v tomto návodu.
7. Některé reagencie obsahují materiály živočišného původu a mělo by se s nimi zacházet jako s potenciálním přenašečem onemocnění.

PŘÍPRAVA KULTURY

Klinické vzorky je třeba kultivovat na Sorbitol-MacConkey agaru. NSFC mohou být testovány přímo nebo ze subkultury na neselektivním agarovém médiu. Kolonie narostlé přes noc (18-24 hod.) se musí na testování čistě odebrat z povrchu agaru pomocí sterilní kličky nebo jehly. Mladé, rychle narostlé kolonie poskytnou typicky nejlepší výsledky.

PROTOKOL TESTU

1. Všechny reagencie nechejte před použitím při pokojové teplotě (22-28 °C).
2. S použitím pipety dejte 0,2 ml fyziologického roztoku do 12x75 mm testovací zkumavky.
3. S použitím sterilní kličky nebo jehly přeneste podezřelé kolonie z misky a suspendujte je ve fyziologickém roztoku tak, abyste dosáhli zákalu odpovídajícímu 3-5 standardu McFarlanda.
4. Umístěte jednu kapku Prolex™ *E. coli* O157 latexové reagencie do testovacího pole na jedné z dodaných kartiček. S použitím Pasteurovy pipety přidejte jednu kapku testovací suspenze do stejného testovacího pole a smíchejte jednou z dodaných míchacích tyčinek.
5. Jemně naklápějte kartičku a za 2 minuty můžete pozorovat aglutinaci.
6. Izoláty s pozitivní reakcí s testovacím latexem se musí dále testovat opakováním postupu s použitím Prolex™ Negative Control latexové reagencie.

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

POSTUP KONTROLY KVALITY

Prolex™ *E. coli* O157 latexová reagencie a Prolex™ Negative Control latexová reagencie se musí před testování izolátů zkontrolovat pomocí Prolex™ pozitivní kontroly. Během dvou minut se musí objevit aglutinace u Prolex™ *E. coli* O157 latexové reagencie a nesmí se objevit aglutinace u Prolex™ Negative Control latexové reagencie.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

1. Následující tabulka ukazuje, jak je třeba interpretovat výsledky získané s Prolex™ *E. coli* O157 latexovou reagencí a Prolex™ *E. coli* O157 pozitivní kontrolou:

O157 LATEXOVÁ REAGENCIE	NEGATIVNÍ KONTROLNÍ LATEXOVÁ REAGENCIE	POZNÁMKY
+	-	Funkčnost soupravy je vyhovující.
-	-	Účinnost je příliš nízká. Reagencie vyhod'te.
+	+	Autoaglutinace: Reagencie vyhod'te.

2. Aglutinace latexových reagencí s testovaným vzorkem je interpretována tak, jak je ukázáno níže:

O157 LATEXOVÁ REAGENCIE	NEGATIVNÍ KONTROLNÍ LATEXOVÁ REAGENCIE	POZNÁMKY
+	-	Pravděpodobně <i>E. coli</i> seroskupina O157
+	+	Autoaglutinace nebo je přítomen zkříženě reagující kmen. Proveďte další testování pro vyloučení <i>E. coli</i> O157
-	neuděláno	Indikuje nepřítomnost <i>E. coli</i> seroskupiny O157
vláknitý nebo mukoidní vzhled	neuděláno	Neinterpretovatelné. Udělejte čerstvou suspenzi kolonií ve fyziologickém roztoku a nechejte shluky usadit. Retestujte supernatant.

LIMITACE PROCEDURY

1. Testujte pouze kolonie s typickou morfológií pro Sorbitol MacConkey agar (non-sorbitol-fermentující).
2. Pozitivní výsledky by se měli potvrdit pomocí rutinních biochemických testů.
3. Tato reagencie byla vyvinuta pro detekci přítomnosti antigenu *E. coli* seroskupiny O157. Některé jiné kmeny *E. coli* O157 (např. O157:H16), které jsou také non-sorbitol-fermentující, také mají u tohoto testu pozitivní výsledek.^{1,12,13}
4. Ačkoliv byl tento test speciálně vyvinut pro omezení zkřížené reaktivity s *Escherichia hermannii* (12), vzácně mohou kmeny reagovat zkříženě.

CHARAKTERISTIKA PROVEDENÍ

Klinická funkčnost soupravy Prolex™ *E. coli* O157 byla hodnocena v nemocniční mikrobiologické laboratoři. Bylo kultivováno 474 vzorků od pacientů s průjmem s příměsí krve s diagnostikovaným

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.










Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz

průjmem, hemorhagickou kolitidou nebo hemolytickým uremickým syndromem. Z těchto 474 vzorků 47 produkovalo sorbitol-negativní kolonie a bylo testováno jako pozitivní na *E. coli* kmen O157 pomocí komerčně dostupného latexového testu. Tyto výsledky byly potvrzeny obvyklými biochemickými testy. Všechny 47 izolátů dávalo pozitivní výsledky při testování s použitím soupravy Prolex™ *E. coli* O157 Latex Reagent Kit (47/47 = 100% citlivost).

LITERATURA

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* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J. Clin. Microbiol. **22**:620-625.
- 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.
- Borczyk A., Lior H., Cebin B. 1987. False positive identification of *Escherichia coli* in foods. Int. J. Food Microbiol. **4**:347-349.
- 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.

	Použitelné do		Obsah dostačuje pro <n> testů
	Číslo šarže		Pro použití in vitro
	Výrobce		Rozmezí teplot
	Katalogové číslo		Viz návod k použití
	Zplnomocněný zástupce		

Poslední revize: 2012/02

Autorizovaný zástupce výrobce v České republice:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.

Sídlo: Tůmova 2265/60, 616 00 Brno, Provozovna: Karásek 1767/1, 621 00 Brno-Řečkovice

Tel.: 549 124 111, fax: 549 211 465, e-mail: info@biovendor.cz, www.biovendor.cz