

***E. COLI O157 ANTISERUM***  
(*pro in vitro diagnostické použití*)

**KATALOGOVÉ ČÍSLO: PL.6250**

**ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ**

Pro-Lab *E. coli* O157 je sklíčkový aglutinační test pro předběžnou identifikaci antigenu *Escherichia coli* serotyp O157 na laboratorních kultivačních médiích.

**SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ**

*Escherichia coli* serotyp O157:H7 je patogen produkující verotoxin (VT-produkující).<sup>1,2</sup> Tento serotyp je udáván jako etiologické agens u řídkých případů hemoragické kolitidy.<sup>3,4,5</sup> Je spojována rovněž s hemolytickým uremickým syndromem.<sup>6</sup> Určité serotypy *E. coli*, jiné než O157:H7, také produkují verotoxin.<sup>7,8,9</sup> Nicméně průjem způsobený těmito serotypy není obvykle s krví. Navíc *E. coli* serotyp O157:H7 nefermentuje sorbitol, přičemž většina ostatních serotypů sorbitol fermentuje.<sup>10,11</sup> 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).<sup>11</sup>

Práce Kauffmanna<sup>12</sup>, Edwarda a Ewinga<sup>13</sup>, Ewinga<sup>14</sup> a Orskova<sup>15</sup> přispěli k vývoji systému serologické typizace kultur *E. coli* a jejich výsledkem je antigenní klasifikační schéma, které lze použít pro identifikaci serotypů *Escherichia coli*, spojovaných s bakteriurií a průjmovitým onemocněním.

Princip testu vyžaduje smíchání podezřelých organismů s antiserem obsahujícím protilátky proti *E. coli* O157. Bakterie budou v přítomnosti homologního antiséra aglutinovat (shlukovat se)

**REAGENCIE**

Pro-Lab *E. coli* O157 Antiserum se připravuje s použitím delipizovaného, zcela absorbovaného králíčího séra obsahujícího protilátky proti *E. coli* serotyp O157.

Antisérum se používá pro předběžnou identifikaci nebo konfirmaci kultur, které byli předtím charakterizovány biochemicky.

Pro-Lab *E. coli* O157 Antiserum se dodává v lahvičce s kapátkem obsahující 3.0 ml ready-to-use naředěného antiséra s 0.01% thimerosalem jako konzervans.

**BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ**

1. Nepoužívejte antisérum po uplynutí data expirace uvedeného na štítku.
2. Antisérum obsahuje thimerosal<sup>⚠</sup>, který je vysoce toxickou látkou na bázi rtuti Ačkoliv množství thimerosalu v antiséru je minimální, je třeba při manipulaci, zpracování a likvidaci reagentie dodržovat bezpečnostní opatření.
3. Vyhněte se kontaminaci reagenční lahvičky.
4. Testovaný vzorek může obsahovat organismus patogenní pro člověka a mělo by se s ním manipulovat a likvidovat jej jako infekční materiál.
5. Souprava je určena pouze pro diagnostické použití *in vitro*.
6. Aby výsledky testu byly platné, je třeba dodržovat postup, podmínky skladování a omezení specifikovaná v tomto návodu.
7. Výrobek obsahuje materiál zvířecího původu, a proto by s ním mělo být zacházeno jako s potenciálně infekčním materiálem.

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](mailto:info@biovendor.cz), [www.biovendor.cz](http://www.biovendor.cz)

## POTŘEBNÝ, ALE NEDODÁVANÝ MATERIÁL

Podložní sklíčka

Fyziologický roztok (0.85% roztok chloridu sodného)

Jednorázové nebo kovové kličky

Párátka

## STABILITA A SKLADOVÁNÍ

Pro-Lab *E. coli* O157 Antiserum je třeba uchovávat těsně uzavřené při 2-8 °C. Antisérum uchovávané za těchto podmínek je stabilní až do uplynutí data expirace uvedeného na štítku.

## ODBĚR VZORKŮ A PŘÍPRAVA KULTURY

Klinické vzorky je třeba kultivovat na Sorbitol-MacConkey médiu. NSFC mohou být subkultivovány na neselektivním agarovém médiu. Kolonie narostlé přes noc se musí na testování čistě odebrat z povrchu agaru pomocí sterilní kličky. Mladé, rychle narostlé kolonie poskytnou typické výsledky.

## POSTUP

1. Umístěte dvě oddělené kapky fyziologického roztoku (0.85% chlorid sodný) na čisté podložní sklíčko.
2. Odeberte podezřelou kolonii *Escherichia coli* z kultury narostlé přes noc a důkladně promíchejte s oběma kapkami fyziologického roztoku na sklíčku tak, abyste získali hladkou suspenzi.
3. Přidejte jednu kapku antiséra na jednu z kapek bakteriální suspenze na sklíčku, do druhé (kontrola) přidejte jednu kapku fyziologického roztoku.
4. Pomocí párátka promíchejte antisérum s bakteriální suspenzí. Potom pomocí nového párátka promíchejte fyziologický roztok (kontrola).
5. Jemně naklánejte sklíčko sem a tam po dobu jedné minuty a zkontrolujte aglutinaci za normálních světelných podmínek nebo s použitím objektivu s malým zvětšením.

## INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Za pozitivní výsledek se považuje zřejmá aglutinace (granulární shluky) v testu antiséra během 60 sekund. V kontrole s fyziologickým roztokem nesmí být žádná aglutinace, nebo je test neplatný (auto-aglutinace).

## LIMITACE PROCEDURY

1. Pro zabezpečení specifičnosti reakce je třeba negativní kontrolu zahrnout do každého testu.
2. Drsné kmeny mají u sklíčkového testu auto-aglutinaci. Obvykle tyto falešně pozitivní aglutinují u kontroly fyziologickým roztokem.
3. Doporučuje se kontrolovat účinnost antiséra *Escherichia coli* pomocí zásobních kultur známé antigenní struktury.

## 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.






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](mailto:info@biovendor.cz), [www.biovendor.cz](http://www.biovendor.cz)

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.

	Použitelné do	<b>IVD</b>	Pro použití in vitro
<b>LOT</b>	Číslo šarže		Rozmezí teplot
	Varování		Viz návod k použití
<b>REF</b>	Katalogové číslo		Výrobce
<b>EC REP</b>	Zplnomocněný zástupce		

Poslední revize: 2012/06

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](mailto:info@biovendor.cz), [www.biovendor.cz](http://www.biovendor.cz)