



Key Code TSMX4147D
www.thermofisher.com

Europe 00800 135 79 135 US 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

E. coli O157 Latex Test

REF DR0620M.....  100

1. INTENDED USE

A qualitative latex slide agglutination test for the confirmatory identification of *E. coli* serogroup O157 isolates grown on agar. Used in a diagnostic workflow to aid clinicians in treatment options for patients suspected of having bacterial infections. The device is not automated, is for professional use only and is not a companion diagnostic.

2. SUMMARY AND PRINCIPLE OF TEST

A latex agglutination test for the identification of *E. coli* serogroup O157.

Certain strains of *Escherichia coli* have been implicated in cases of haemorrhagic colitis (HC) and haemolytic uremic syndrome (HUS).

It has been shown that these strains produce a vero-cytotoxin (VT). The *E. coli* serotype most frequently isolated from HC and HUS cases is O157:H7. Isolation of this serotype from a diarrhoeal stool particularly with the presence of blood is indicative of a vero-cytotoxin producing strain^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}.

The *E. coli* O157 latex test will demonstrate by slide agglutination *E. coli* strains possessing the O157 serogroup antigen. The test is best used in conjunction with Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM0813). *E. coli* O157:H7 strains do not ferment Sorbitol and therefore give colourless colonies on this medium. The majority of *E. coli* isolates do ferment Sorbitol and give characteristic pink colonies.

Sorbitol MacConkey Agar should be used as the primary screen. Non-sorbitol fermenting colonies can then be tested with the latex reagents, to determine whether the isolate belongs to the O157 serogroup and therefore a potential VT- producing strain.

3. COMPONENTS OF THE KIT

DR0621M Test Latex

Consists of blue latex particles sensitised with specific rabbit antibody reactive with the O157 somatic antigen. Each kit contains sufficient reagent for 100 tests.

DR0622M Control Latex

Consists of blue latex particles sensitised with pre-immune rabbit globulin. Each kit contains sufficient reagent for 100 tests.

DR0623M Positive Control Suspension

A suspension of inactivated *E. coli* O157 cells in buffer. Sufficient for 25 tests.

DR0624M Negative Control Suspension

A suspension of *E. coli* O116 cells in buffer. Sufficient for 25 tests.

DR0500G Reaction Cards

There are 35 disposable reaction cards provided in the kit.

Instructions for Use (IFU).

4. MATERIALS REQUIRED

The following materials are required but not provided in this kit
Microbiological loop and bunsen burner.

0.85% saline.

Suitable disinfectant e.g. sodium hypochlorite solution >1.3% w/w.

Timer

5. PRECAUTIONS

IVD The reagents are for *in vitro* diagnostic use only.

For professional use only.

In the event of malfunction do not use device.

Please refer to the Material Safety Data Sheet (MSDS), available on the company website, and product labeling for information on potentially hazardous components.

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or the patient is established.

Do not freeze.

Reagents with different lot numbers should not be interchanged.

Reagents contain 0.1% sodium azide as a preservative.

Sodium azide may react with lead or copper plumbing to produce metal azides which are explosive by contact detonation. To prevent azide accumulation in plumbing, flush with copious amounts of water immediately after waste disposal.

Specimen materials may contain pathogenic organisms handle with appropriate precautions.

6. STORAGE

This kit must be stored at 2 to 8°C. Under these conditions the reagents will retain their reactivity until the expiry date shown on the kit box.

7. CONTROL PROCEDURES

The Control Suspensions provided should be used to check the correct working of the latex reagents each day before routine tests are performed.

The Positive Control Suspension must cause visible agglutination with the Test Latex reagent within one minute.

The Negative Control Suspension should cause no agglutination with the Test and Control Latex within one minute.

Do not use the test if reactions with the Control Suspensions are incorrect.

8. IMPORTANT PROCEDURE NOTES

Do not allow the reagents to become contaminated by letting the dropper tip touch the specimen on the reaction card.

Ensure that the caps are securely fitted after each use to prevent contamination and drying out of the reagent.

After use return the kit to the refrigerator ensuring that the bottles are stored in an upright position.

9. CULTURE MATERIAL

Non-sorbitol fermenting (NSF) colonies may be taken from Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM0813) or alternatively NSF isolates may be inoculated onto non- selective media such as Nutrient Agar for testing. It is necessary to test up to 10 separate

NSF colonies to ensure a high probability of detecting any O157 strains which may be in a mixed culture with NSF *E. coli* of other serotypes. The use of the Control Latex will ensure that the isolate is not an autoagglutinating strain.

10. TEST METHOD

- Allow the reagents to equilibrate to room temperature before use. Make sure the latex suspensions are mixed by vigorous shaking. Expel any latex from the dropper pipette for complete mixing.
- Dispense 1 drop of the Test Latex onto a circle on the reaction card. Place it close to the edge of the circle.
- Add some loopfuls or a pasteur pipette drop of saline to the circle. Ensure that the latex and saline do not mix at this stage.
- Using a loop pick off a portion of the colony to be tested and carefully emulsify in the saline drop. Ensure that the resulting suspension is smooth.
- Mix the Test Latex and suspension together and spread to cover the reaction area using the loop. Flame the loop.
- Rock the card in a circular motion observing for agglutination. Do not rock the card for more than 1 minute and do not use a magnifying glass.
- If no agglutination occurs then proceed to test other NSF colonies if these are present.
- If agglutination with the Test Latex does occur, then it is necessary to test a further portion of the colony with the Control Latex reagent to ensure that the isolate is not an auto-agglutinating strain.
- When finished dispose of the reaction card into disinfectant.

11. INTERPRETATION OF TEST RESULTS

Agglutination of the Test Latex within one minute is a positive result. This indicates the presence of *E. coli* Serogroup O157.

No agglutination occurring within one minute is a negative result. This indicates the absence of *E. coli* Serogroup O157.

Results cannot be interpreted if there is agglutination of both the Test and Control Latex.

Granular or Stringy Reactions

Occasionally granular or stringy reactions may be seen due to the particulate nature of the test material. When such reactions are seen to occur they should be interpreted using the following criteria:

The result is positive when, using the test reagent, greater clearing of the blue background occurs compared with the reaction of the control reagent. The result is negative, when there are no significant changes in the clearing of the blue background using the test and control reagents.

Some strains of *E. coli* are difficult to emulsify in saline and may give a stringy type reaction with both the test and the control reagents. This does not look like true agglutination and should be ignored. If this stringiness is found to be too severe for a correct judgement to be made then the colony should be suspended in 0.3 ml of saline. Allow the lumps to settle and retest this smooth supernatant.

12. LIMITATIONS OF THE TEST

If a positive result is obtained on a colony of unknown species, then biochemical tests should be performed to confirm that the organism is an *E. coli* strain.

Neither the Sorbitol MacConkey Agar nor the *E. coli* O157 latex test will directly confirm the isolate as a toxin-producing strain.

Other serotypes have been found which produce the vero-cytotoxin.

In addition other bacterial strains have been identified with epitopes that mimic those of *E. coli* O157 lipopolysaccharide.¹¹

Some strains of *Escherichia hermannii* may cross react with *E. coli* O157 sera and the latex test due to a shared antigen (Borczyk et al)¹. *E. hermannii* may be differentiated from *E. coli* as they ferment cellobiose, grow in the presence of potassium cyanide (KCN) and produce a yellow pigment, which may be delayed¹⁰.

13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

In clinical comparisons of the performance of the Oxoid *E. coli* O157 latex test and commercially antisera, results demonstrated 99.3% (151/152) agreement between the two methods⁹. The sensitivity of the Oxoid tests was 100% (49/49), and the specificity was 99.0% (101/103). The discrepant sample was further tested and found to be positive for *E. coli* O157. This was in agreement with the Oxoid test result.

The Oxoid reagents did not show cross reactivity with other *E. coli* strains or non sorbitol fermenting organisms.

The Oxoid test was performed directly from a variety of culture media. None of these media were found to cause interference with the latex test.

The performance of the *E. coli* O157 latex test was evaluated at the Central Public Health Laboratory (CPHL), UK, in the Laboratory of Enteric Pathogens (1998), using fully characterised strains of target and non-target organisms.

All strains were tested after sub-culture onto Sorbitol MacConkey agar (SMAC) and Sorbitol MacConkey agar containing Cefixime Tellurite supplement (CT-SMAC). A lower number of organisms were tested from CT-SMAC, as due its selective nature, some organisms could not be cultured on this medium,

Sensitivity was calculated from results of testing known *E. coli* O157 strains. Both sorbitol negative and sorbitol positive strains were tested and used to calculate this. Specificity was calculated from results of testing known non-sorbitol fermenting (NSF), non-*E. coli* O157 strains (i.e. other organisms, including other *E. coli* strains).

Table 1. Results of testing organisms cultured on SMAC and CT-SMAC.

		SMAC (n=120)		CT-SMAC (n=95)	
		Organism			
		+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)	+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	+	59	0	52	0
	-	1	60	0	43

Table 2. Statistical analysis of data.

	Sensitivity %	Specificity %
SMAC		
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	98.3	100
CT-SMAC		
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	100	100

On SMAC agar one culture, an *E. coli* O157:H9, gave a false negative result. This culture was also negative when tested with a competitor kit and was therefore not re-tested. This organism is not a verocytotoxin-producing *E. coli* VTEC) strain. No VTEC strains were misidentified by the kit.

In addition, a total of 65 sorbitol fermenting, non-*E. coli* O157 strains were tested from SMAC and 52 from CT-SMAC. None gave a positive result with the *E.coli* O157 latex test. One of the sorbitol fermenting strain (*Klebsiella oxytoca*) was found to be auto-agglutinating with the kit. On repeat testing this sorbitol positive strain was found to be negative.

14. REFERENCES

1. Borczyk A. Lior H. Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.
2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.
3. Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett,7, 15-17.
4. Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.
5. Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983),Lancet i,619-620.
6. Johnson,W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.
7. March S., and Ratnam (1986) J.Clin. Microbiol.23. - 869-872.
8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbial. 25, 1043-1047.
9. P.A.Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying Escherichia coli O157.42:1109-1110.
10. Brenner et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No.4 p.703
11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of Escherichia coli O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679–684

15. SYMBOL LEGEND

	Catalogue Number
	In Vitro Diagnostic Medical Device
	Consult Instructions for Use (IFU)
	Temperature Limitations (Storage temp.)
	Contains sufficient for <N> tests
	Batch Code (Lot Number)
	Use By (Expiration Date)
	Importer
	Unique Device Identifier
	Authorized representative in the European Community
	UK Conformity Assessed
	European Conformity Assessment
	Manufacturer



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK

For Technical assistance see, www.thermofisher.com

Version	Date of modifications introduced
X4147D	April 2024
	Updated to meet IVDR requirements



Key Code TSMX4147D
www.oxid.com/ifu

Evropa 00800 135 79 135 USA 1 855 2360 190
Kanada 1 855 805 8539 Zbytek světa +31 20 794 7071

Latexový test na *E. coli* O157

REF DR0620M.....  100

1. URČENÉ POUŽITÍ

Kvalitativní latexový aglutinační test prováděný na sklíčku pro konfirmační identifikaci izolátů *E. coli* séro skupiny O157 kultivovaných na agaru. Používá se v diagnostickém pracovním postupu jako pomůcka pro lékaře při výběru možností léčby u pacientů s podezřením na bakteriální infekci. Tento prostředek není automatizovaný, je určen pouze pro profesionální použití. Nepředstavuje doprovodnou diagnostiku.

2. PŘEHLED A PRINCIP TESTU

Latexový aglutinační test pro identifikaci *E. coli* séro skupiny O157. Některé kmeny *Escherichia coli* se podílely na případech hemoragické kolitidy (HC) a hemolyticko-uremického syndromu (HUS).

Bylo prokázáno, že tyto kmeny produkují verocytotoxin (VT). Sérotyp *E. coli* nejčastěji izolovaný z případů HC a HUS je O157:H7. Izolace tohoto sérotypu z průjemové stolice, zejména s přítomností krve, svědčí o kmeni produkujícím verocytotoxin.^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}

Latexový test *E. coli* O157 prokáže aglutinaci na sklíčku kmeny *E. coli* s antigenem séro skupiny O157. Test se nejlépe používá ve spojení se sorbitol MacConkeyovým agarem (Oxoid CM0813). Kmeny *E. coli* O157:H7 sorbitol nefermentují, a proto na tomto médiu vytvářejí bezbarvé kolonie. Většina izolátů *E. coli* fermentuje sorbitol a vytváří charakteristické růžové kolonie.

Pro primární screening by měl být použit sorbitol MacConkeyův agar. Kolonie, které nefermentují sorbitol, lze poté testovat pomocí latexových činidel, aby se zjistilo, zda izolát patří do séro skupiny O157, a je tedy potenciálním kmenem produkujícím VT.

3. OBSAH SOUPRAVY

DR0621M – zkušební latex

Obsahuje modré latexové částice senzibilizované specifickou králičí protilátkou reagující se somatickým antigenem O157. Každá souprava obsahuje dostatečné množství činidla na 100 testů.

DR0622M – kontrolní latex

Obsahuje modré latexové částice senzibilizované preimunním králičím globulinem. Každá souprava obsahuje dostatečné množství činidla na 100 testů.

DR0623M – suspenze pozitivní kontroly

Suspenze inaktivovaných buněk *E. coli* O157 v pufru. Dostatečné množství pro 25 testů.

DR0624M – suspenze negativní kontroly

Suspenze buněk *E. coli* O116 v pufru. Dostatečné množství pro 25 testů.

DR0500G – reakční karty

Souprava obsahuje 35 jednorázových reakčních karet.

Návod k použití.

4. POŽADOVANÉ MATERIÁLY

Následující materiály jsou požadovány, nejsou ale s touto soupravou poskytovány.

Mikrobiologická klička a Bunsenův kahan.

0,85% fyziologický roztok.

Vhodný dezinfekční prostředek, např. roztok chlornanu sodného > 1,3 % hm./hm.

Časovač

5. BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

IVD Činidla jsou určena pouze pro diagnostiku *in vitro*.

Určeno pouze pro profesionální použití.

V případě poruchy prostředek nepoužívejte.

Informace o potenciálně nebezpečných složkách naleznete v bezpečnostním listu (BL), který je k dispozici na webových stránkách společnosti, a na etiketě produktu.

Všechny závažné incidenty, které se vyskytnou v souvislosti s tímto prostředkem, se musejí nahlásit výrobci a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém je uživatel a/nebo pacient usazen.

Nezmrazujte.

Činidla s různými čísly šarží by se neměla zaměňovat.

Činidla obsahují jako konzervační látku azid sodný (0,1 %).

Azid sodný může reagovat s olověným nebo měděným vodovodním potrubím za vzniku azidů kovů, které jsou při kontaktní detonaci výbušné. Abyste zabránili hromadění azidu ve vodovodním potrubí, ihned po likvidaci odpadu potrubí propláchněte velkým množstvím vody.

Vzhledem k tomu, že materiály vzorků mohou obsahovat patogenní organismy, manipulujte s nimi v souladu s příslušnými bezpečnostními opatřeními.

6. SKLADOVÁNÍ

Tato souprava musí být skladována při teplotě od 2 do 8 °C. Za těchto podmínek si činidla zachovávají svou reaktivitu až do data použitelnosti uvedeného na krabičce.

7. KONTROLNÍ POSTUPY

Dodané kontrolní suspenze by měly být používány ke kontrole správného fungování latexových činidel každý den před provedením rutinních testů.

Suspenze pozitivní kontroly musí vyvolat viditelnou aglutinaci se zkušebním latexovým činidlem do jedné minuty.

Suspenze negativní kontroly by neměla způsobit aglutinaci se zkušebním a kontrolním latexem během jedné minuty.

Pokud reakce s kontrolními suspenzemi nejsou správné, test nepoužívejte.

8. DŮLEŽITÉ POZNÁMKY K POSTUPU

Zamezte kontaminaci činidel, k níž by mohlo dojít, když se špička kapátka dotkne vzorku na reakční kartě.

Po každém použití se ujistěte, že jsou uzávěry bezpečně nasazeny, aby nedošlo ke kontaminaci a vyschnutí činidel.

Po použití vraťte soupravu do chladničky a zajistěte, aby lahvičky byly uloženy ve svislé poloze.

9. MATERIÁL PRO KULTIVACI

Kolonie nefermentující sorbitol (NSF) lze odebrat ze sorbitol MacConkeyova agaru (Oxoid CM0813) nebo lze izoláty NSF naočkovat na neselektivní média, jako je živný agar, a provést testování. Je nutné testovat až 10 samostatných kolonií NSF, aby byla zajištěna vysoká pravděpodobnost detekce všech kmenů O157, které ve smíšené kultuře s NSF *E. coli* jiných sérotypů mohou být. Použití kontrolního latexu zajistí, že izolát není autoaglutinačním kmenem.

10. ZKUŠEBNÍ METODA

- Před použitím nechte činidla vytemperovat na pokojovou teplotu. Latexové suspenze silně protřepejte a přesvědčte se, že se důkladně promíchaly. Z pipetovacího kapátka vypusťte veškerý latex, aby došlo k úplnému promíchání.
- Nadávkujte 1 kapku zkušebního latexu na kroužek na reakční kartě. Umístěte ji blízko okraje kroužku.
- Do kroužku přidejte několik plných kliček anebo kapku fyziologického roztoku z Pasteurovy pipety. Dbejte na to, aby se latex a fyziologický roztok v této fázi nesmíchaly.
- Pomocí kličky oddělte část kolonie, která má být testována, a opatrně ji emulgujte v kapce fyziologického roztoku. Zajistěte, aby výsledná suspenze byla hladká.
- Smíchejte zkušební latex a suspenzi dohromady a rozetřete je pomocí smyčky tak, aby pokryly reakční oblast. Vložte kličku do plamene.
- Krouživými pohyby kývejte kartou a sledujte, zda nedochází k aglutinaci. Nekývejte kartou déle než 1 minutu a nepoužívejte lupu.
- Pokud nedojde k aglutinaci, pokračujte v testování dalších kolonií NSF, pokud jsou přítomné.
- Pokud dojde k aglutinaci se zkušebním latexem, je nutné otestovat další část kolonie s kontrolním latexovým činidlem, abyste potvrdili, že izolát není autoaglutinačním kmenem.
- Po dokončení zlikvidujte reakční kartu do dezinfekčního prostředku.

11. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

Agglutinace zkušebního latexu do jedné minuty představuje pozitivní výsledek. To ukazuje na přítomnost *E. coli* séro skupiny O157.

Pokud do jedné minuty k žádné aglutinaci nedojde, představuje to negativní výsledek. To ukazuje na nepřítomnost *E. coli* séro skupiny O157.

Výsledky nelze interpretovat, pokud dojde k aglutinaci ze zkušebního i kontrolního latexu.

Zrnité nebo vláknité reakce

Příležitostně se mohou objevit zrnité nebo vláknité reakce způsobené částicovou povahou testovaného materiálu. Pokud takové reakce nastanou, měly by být interpretovány podle následujících kritérií:

Výsledek je pozitivní, pokud při použití testovacího činidla dojde ve srovnání s reakcí kontrolního činidla k většímu projasnění modrého pozadí. Výsledek je negativní, pokud při použití testovacích a kontrolních činidel k výrazným změnám v projasnění modrého pozadí nedojde.

Některé kmeny *E. coli* se obtížně emulgují ve fyziologickém roztoku a mohou vyvolat vláknitou reakci s testovacím i kontrolním činidlem. To nevypadá jako skutečná agglutinace a nemělo by se

to brát v úvahu. Pokud se zjistí, že je vláknitost příliš silná na to, aby bylo možné provést správný úsudek, měla by být kolonie suspendována v 0,3 ml fyziologického roztoku. Nechte hrudky usadit a tento hladký supernatant otestujte znovu.

12. OMEZENÍ TESTU

Pokud je získán pozitivní výsledek u kolonie neznámého druhu, je třeba provést biochemické testy, aby se potvrdilo, že se jedná o kmen *E. coli*.

Sorbitol MacConkeyův agar ani latexový test *E. coli* O157 nepotvrdí přímo, že je izolát kmenem produkujícím toxin.

Byly nalezeny další sérotypy, které produkují verocytotoxin.

Kromě toho byly identifikovány další bakteriální kmeny s epitopy, které napodobují epitopy lipopolysacharidu *E. coli* O157.¹¹

Některé kmeny *Escherichia hermannii* reagují zkříženě se séry *E. coli* O157 a latexovým testem v důsledku společného antigenu (Borczyk et al.).¹ *E. hermannii* lze odlišit od *E. coli*, protože fermentuje celobiozu, roste v přítomnosti kyanidu draselného (KCN) a produkuje žlutý pigment, což může být opožděno.¹⁰

13. CHARAKTERISTIKY FUNKČNOSTI

Při klinickém srovnání funkčnosti latexového testu Oxoid *E. coli* O157 a komerčně vyráběných antisér byla zjištěna 99,3% (151/152) shoda mezi oběma metodami.⁹ Citlivost testů Oxoid byla 100 % (49/49) a specifčnost 99,0 % (101/103). Neshodný vzorek byl dále testován a byl sledován pozitivním na přítomnost *E. coli* O157. To bylo v souladu s výsledkem testu Oxoid.

Činidla Oxoid nevykazovala zkříženou reaktivitu s jinými kmeny *E. coli* nebo organismy nefermentujícími sorbitol.

Test Oxoid byl proveden přímo z různých kultivačních médií. U žádného z těchto médií nebylo zjištěno, že by způsobovalo interferenci s latexovým testem.

Funkčnost latexového testu pro stanovení *E. coli* O157 byla hodnocena v centrální laboratoři veřejného zdraví (Central Public Health Laboratory, CPHL) ve Spojeném království, v laboratoři enterických patogenů (Laboratory of Enteric Pathogens, 1998) za použití plně charakterizovaných kmenů cílových a necílových organismů.

Všechny kmeny byly testovány po subkultivaci na sorbitol MacConkeyově agaru (SMAC) a sorbitol MacConkeyově agaru obsahujícím doplněk v podobě teluricitanového cefiximu (CT-SMAC). Z CT-SMAC byl testován nižší počet organismů, protože některé organismy nebylo možné na tomto médiu kultivovat kvůli jeho selektivnímu charakteru.

Citlivost byla vypočtena z výsledků testování známých kmenů *E. coli* O157. Testovány byly jak sorbitol negativní, tak sorbitol pozitivní kmeny, které pak byly použity k výpočtu. Specifčnost byla vypočtena na základě výsledků testování známých kmenů nefermentujících (NSF) kmenů jiných než *E. coli* O157 (tj. jiných organismů, včetně jiných kmenů *E. coli*).

Tabulka 1. Výsledky testování organismů kultivovaných na SMAC a CT-SMAC.

		SMAC (n = 120)		CT-SMAC (n = 95)	
		Organismus			
		+ (tj. <i>E. coli</i> O157)	– (tj. jiné než <i>E. coli</i> O157)	+ (tj. <i>E. coli</i> O157)	– (tj. jiné než <i>E. coli</i> O157)
Latexový test na <i>E. coli</i> O157	+	59	0	52	0
	–	1	60	0	43

Tabulka 2. Statistická analýza dat.

	Citlivost (%)	Specifičnost (%)
SMAC		
Latexový test na <i>E. coli</i> O157	98,3	100
CT-SMAC		
Latexový test na <i>E. coli</i> O157	100	100

Na agaru SMAC poskytla jedna kultura, *E. coli* O157:H9, falešně negativní výsledek. Tato kultura byla negativní i při testování konkurenční soupravou, a proto nebyla znovu testována. Tento organismus není kmen *E. coli* produkující verocytotoxin (VTEC). Žádný kmen VTEC nebyl soupravou chybně identifikován.

Dále bylo testováno celkem 65 sorbitol fermentujících kmenů jiných než *E. coli* O157, ze SMAC a 52 ze CT-SMAC. Žádný z nich neposkytl u latexového testu na *E. coli* O157 pozitivní výsledek. Bylo zjištěno, že jeden z kmenů fermentujících sorbitol (*Klebsiella oxytoca*) se touto soupravou autoaglutinuje. Při opakovaném testování byl tento sorbitol pozitivní kmen shledán negativním.

14. REFERENCE

1. Borczyk A. Lior H. Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347–349.
2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775–779.
3. Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett,7, 15–17.
4. Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580–585.
5. Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983), Lancet i, 619–620.
6. Johnson, W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.
7. March S., and Ratnam (1986) J.Clin. Microbiol.23. - 869–872.
8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbial. 25, 1043–1047.
9. P.A.Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying Escherichia coli O157.42:1109–1110.
10. Brenner et al (1982) Journal of Clinical Microbiology sv. 15 č. 4 str. 703
11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of Escherichia coli O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679–684

15. LEGENDA K SYMBOLŮM

REF	Katalogové číslo
IVD	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Prostudujte si návod k použití
	Teplotní omezení (teplota skladování)
	Obsah postačuje pro <N> testů
LOT	Kód dávky (číslo šarže)
	Datum použitelnosti (datum expirace)
EC REP	Zplnomocněný zástupce v Evropském společenství
	Výrobce



IFU X4147D, revidováno v říjnu 2021 Vytlačeno ve Spojeném království



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Spojené království



Võtmekood TSMX4147D
www.oxid.com/ifu

Euroopa 00800 135 79 135 USA 1 855 2360 190
Kanada 1 855 805 8539 Muud riigid +31 20 794 7071

E. coli O157 Latex Test

REF DR0620M.....  100

1. SIHTOTSTARVE

See on kvalitatiivne aluslaasi lateksaglutinatsiooni analüüs agaril kasvatatavate *E. coli* serorühma O157 isolaatide kinnitavaks tuvastamiseks. Analüüsi kasutatakse diagnostika töövoos, et aidata kliinikutel leida ravivõimalusi patsientidele, kellel kahtlustatakse bakteriaalset infektsiooni. Seade pole automatiseeritud, on ainult ametialaseks kasutamiseks ja ei ole sobivusdiagnostikaseade.

2. KOKKUVÕTE JA ANALÜÜSI PÕHIMÕTE

See on lateksaglutinatsiooni analüüs *E. coli* serorühma O157 tuvastamiseks.

Teatud *Escherichia coli* tüved on seotud hemorraagilise koliidi (HC) ja hemolüütilis-ureemilise sündroomi (HUS) juhtumitega.

On näidatud, et need tüved toodavad verotsütotoksiini (VT). Kõige sagedamini HC- ja HUS-juhtumite korral isoleeritud *E. coli* serotüüp on O157:H7. Selle serotüübi isoleerimine kõhulahtisuse väljaheidest, eriti vere olemasolul, osutab verotsütotoksiini tootvale tüvele^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}.

E. coli O157 lateksanalüüs toob aluslaasi aglutinatsiooni teel välja *E. coli* tüved, millel on O157-serorühma antigeen. Analüüsi kasutatakse koos materjaliga Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM0813). *E. coli* tüved O157:H7 ei käärita sorbitooli ja tekitavad seega selles söötmes värvituid kolooniaid. Enamik *E. coli* isolaate kääritavad sorbitooli ja tekitavad iseloomulikke roosaid kolooniaid.

Peamise sõelana tuleb kasutada materjali Sorbitol MacConkey Agar. Sorbitooli mitteääritavaid kolooniaid saab seejärel analüüsida lateksreaktiividega, et teha kindlaks, kas isolaat kuulub O157 serorühma ja kas see on seega võimalik VT-d tootev tüvi.

3. KOMPLEKTI OSA

DR0621M Test Latex

See sisaldab sinise lateksi osakesi, mis on sensibiliseeritud küüliku antikehaga, mis reageerib O157 somaatilise antigeeniga. Iga komplekt sisaldab piisavalt reaktiivi 100 analüüsiks.

DR0622M Control Latex

Sisaldab sinise lateksi osakesi, mis on sensibiliseeritud küüliku immuniseerimisesele globuliiniga. Iga komplekt sisaldab piisavalt reaktiivi 100 analüüsiks.

Positiivse kontrolli suspensioon DR0623M

See on suspensioon inaktiveeritud *E. coli* O157-rakkudest puhvrts. Sellest piisab 25 analüüsiks.

Negatiivse kontrolli suspensioon DR0624M

See on suspensioon *E. coli* O116-rakkudest puhvrts. Sellest piisab 25 analüüsiks.

Reaktsioonikaardid DR0500G

Komplektiga on kaasas 35 ühekordselt kasutatavat reaktsioonikaarti.

Kasutusjuhend

4. VAJAMINEV MATERJAL

Komplektiga pole kaasas järgnevat vajaminevat materjali.

Mikrobioloogiline silmus ja Bunseni põleti

0,85% soolalahus

Asjakohane desinfektsioonivahend, nt naatriumi hüpokloriiti lahus, > 1,3% (mass/maht)

Taimer

5. ETTEVAATUSABINÕUD

IVD Reaktiivid on ainult *in vitro* diagnostikas kasutamiseks.

Ainult ametialaseks kasutuseks.

Törke korral ärge kasutage seadet.

Uurige materjali ohutuskaarti (MSDS), mis on saadaval ettevõtte veebisaidil, ja tootemärgistust teabe saamiseks potentsiaalselt ohtlike komponentide kohta.

Kõigist seadmega seotud ohujuhtumitest tuleb teavitada tootjat ja selle liikmesriigi pädevat asutust, kus kasutaja ja/või patsient asuvad.

Mitte külmutada.

Eri partiumbritega reaktiive ei tohi vahetusse lasta.

Reaktiivid sisaldavad säilitusainena 0,1% naatriumasiidi.

Naatriumasiid võib reageerida plii- või vasktorudega ning toota metallasiide, mis on kokkupuutel lõhkemise tõttu plahvatusohtlikud. Asiidi torudesse kogunemise vältimiseks loputage torud pärast jäätmete kõrvaldamist kohe rohke veega.

Proovimaterjalid võivad sisaldada patogeenseid organisme, käige nendega ümber asjakohase ettevaatusega.

6. SÄILITAMINE

Komplekti tuleb säilitada temperatuuril 2 °C kuni 8 °C. Nendes tingimustes säilib reaktiivide reaktiivsus komplekti karbil toodud kõlblikkusajani.

7. KONTROLLPROTSEDUURID

Kaasasolevate kontrollsuspensioonide abil tuleb iga päev enne rutiinseid analüüse lateksreaktiivide õiget toimimist kontrollida.

Positiivse kontrolli suspensioon peab tekitama nähtavat aglutinatsiooni reaktiiviga Test Latex ühe minuti jooksul.

Negatiivse kontrolli suspensioon ei tohi tekitada nähtavat aglutinatsiooni reaktiividega Test ja Control Latex ühe minuti jooksul.

Ärge kasutage analüüsi, kui reaktsioonid kontrollsuspensioonidega pole korrektsed.

8. OLULISED PROTSEDUURIMÄRKUSED

Ärge laske reaktiividel saastuda nii, et lasete tilgutitsal puutuda reaktsioonikaardil vastu proovi.

Veenduge saastumise ja reaktiivi ärakuivamise vältimiseks pärast iga kasutust, et korgid oleksid kindlalt peal.

Pärast kasutust pange komplekt tagasi külmikusse veendumaks, et pudeleid hoitaks püstiasendis.

9. KULTUURI MATERJAL

Sorbitooli mitteääritavad (NSF) kolooniad saab koguda söötimest Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM0813), teine võimalus on inokuleerida NSF-i isolaadid analüüsimiseks mitteselektiivsesse söötmesse, nagu toitainearag. Koos NSF-i muude serotüüpide *E. coli*'ga kultuuri segatud mis tahes O157-tüvede tuvastuse suure tõenäosuse tagamiseks tuleb analüüsida kuni 10 eraldi NSF-kolooniat. Materjali Control Latex kasutamisega tagatakse, et isolaat pole iseaglutineeruv tüvi.

10. ANALÜÜSIMEETOD

1. Laske reaktiividel enne kasutamist toatemperatuurini jõuda. Veenduge, et lateksisuspensioone segataks jõulise raputamise teel. Väljutage mis tahes lateks tilgutipipetist, et segunemine oleks korralik.
2. Dispenseerige üks tilk materjali Test Latex reaktsioonikaardi ringile. Paigutage see ringi serva juurde.
3. Lisage ringi mõni silmusetäis või Pasteuri pipeti tilk soolalahust. Veenduge, et selles staadiumis lateks ja soolalahus ei segunek.
4. Võtke silmuse abil analüüsitava koloonia osa ja emulgeerige see hoolikalt soolalahuse tilgas. Veenduge, et saadud suspensioon oleks ühtlane.
5. Segage Test Latex ja suspensioon kokku ning ajage see silmuse abil laiali, et reaktsioonipiirkond oleks kaetud. Steriliseerige silmus leegis.
6. Raputage kaarti ringiate liigutusega ja jälgige aglutinatsiooni. Ärge raputage kaarti kauem kui minut aega ja ärge kasutage suurendusklaasi.
7. Kui aglutinatsiooni ei teki, analüüsige muid NSF-kolooniaid, kui neid on.
8. Kui materjaliga Test Latex aglutinatsiooni ei toimu, tuleb analüüsida veel mõni koloonia osa reaktiivi Control Latex abil veendumaks, et isolaat poleks iseaglutineeruv tüvi.
9. Kui see on valmis, kõrvaldage reaktsioonikaart desinfektsioonivahendisse.

11. ANALÜÜSI TULEMUSTE TÕLGENDAMINE

Materjali Test Latex aglutinatsioon ühe minuti jooksul on positiivne tulemus. See näitab *E. coli* serorühma O157 olemasolu.

Kui ühe minuti jooksul aglutinatsiooni ei toimu, on tulemus negatiivne. See näitab *E. coli* serorühma O157 puudumist.

Kui aglutinatsioon toimub nii materjaliga Test Latex kui ka materjaliga Control Latex, siis tulemusi tõlgendada ei saa.

Granulaarsed või kiulised reaktsioonid

Aeg-ajalt võivad analüüsimaterjali osakeste omaduste tõttu ilmned granulaarsed või kiulised reaktsioonid. Taoliste reaktsioonide ilmnemisel tuleb neid tõlgendada järgmiste kriteeriumite kohaselt.

Tulemus on positiivne, kui analüüsireaktiivi kasutamisel selgineb sinine taust võrreldes kontrollreaktiivi reaktsiooniga rohkem. Tulemus on negatiivne, kui sinise tausta selginev analüüsi- ja kontrollreaktiivi kasutamisel oluliselt ei erine.

Mõni *E. coli* tüvi on keeruline soolalahuses emulgeerida ja võib anda nii analüüsi- kui ka kontrollreaktiiviga kiulist tüüpi reaktsiooni. See ei näe välja nagu tõeline aglutinatsioon ja seda tuleb ignoreerida. Kui korraliku hinnangu andmiseks ilmneb liigne kiulisus, tuleb koloonia suspendeerida 0,3 ml soolalahusesse. Laske klompidel lõhustuda ja tehke analüüs uuesti ühtlase supernatandiga.

12. ANALÜÜSI PIIRANGUD

Kui tundmatu liigi koloonia annab positiivse tulemuse, tuleb biokeemiliste analüüsides teel kinnitada, et organism on *E. coli* tüvi.

Ei Sorbitol MacConkey Agar ega *E. coli* O157 lateksanalüüs ei kinnita otseselt, et isolaat on toksine tootev tüvi.

Leitud on ka muid verotsütotoksiini tootvaid serotüüpe.

Lisaks on tuvastatud muid bakteriaalseid tüvesid, mille epitoobid matkivad *E. coli* O157 lipopolüsahhariidi omi.¹¹

Mõned *Escherichia hermanii* tüved võivad ristreageerida *E. coli* O157 serotüüpidega ja lateksanalüüsiga ühisest antigeenist tulenevalt (Borczyk *et al.*)¹. *E. hermanii* saab *E. coli* hulgast eristada, kuna see kääritab tsellobioosi, kasvab kaaliumtsüaniidi (KCN) juuresolekul ning toodab kollast pigmenti, mida saab viivitada¹⁰.

13. TOIMIVUSNÄITAJAD

Analüüsi Oxoid *E. coli* O157 ja kaubanduslikult kättesaadavate antiseerumite toimivuse kliinilise võrdlus tulemused näitasid kahe meetodi vahel 99,3% (151/152) ühtlust⁹. Ettevõtte Oxoid analüüsides tundlikkus oli 100% (49/49) ja spetsiifilisus 99,0% (101/103). Lahknevad proovi analüüsiti veel ja leiti, et see oli *E. coli* O157-tüve suhtes positiivne. See ühtis ettevõtte Oxoid analüüsi tulemusega.

Ettevõtte Oxoid reaktiivid ei ilmutanud ristreaktiivsust muude *E. coli* tüvedega ega sorbitooli mitteääritavate organismidega.

Ettevõtte Oxoid analüüsimaterjal koguti otse mitmesugustest kasvusöötmetest. Ükski sööde ei ilmutanud lateksanalüüsi häirimist.

E. coli O157 lateksanalüüsi hindas Ühendkuningriigi Central Public Health Laboratory (CPHL), Laboratory of Enteric Pathogens (1998), siht- ja mittesihtorganismide täisiseloomustatud tüvede abil.

Kõik tüved analüüsiti pärast alamkultuuri külvil söötmesse Sorbitol MacConkey Agar (SMAC) ja söötmesse Sorbitol MacConkey Agar, mis sisaldas lisandit Cefixime Tellurite (CT-SMAC). Söötimest CT-SMAC kogutud organisme analüüsiti väiksemal arvul, kuna söötme selektiivsete omaduste tõttu ei saanud mõnda organismi sinna külvata.

Tundlikkus arvutati välja teadaolevate *E. coli* O157-tüvede analüüsitulemuste põhjal. Selleks analüüsiti ja kasutati nii sorbitoolnegatiivseid kui ka sorbitoolpositiivseid tüvesid. Spetsiifilisus arvutati välja teadaolevate sorbitooli mitteääritavate (NSF), *E. coli* O157-tüvedest erinevate organismide (st teised organismid, sh teised *E. coli* tüved) analüüsitulemuste põhjal.

Tabel 1. SMAC ja CT-SMAC kultuuri organismide analüüsitulemused.

		SMAC (n = 120)		CT-SMAC (n = 95)	
		Organism			
		+(s.o <i>E. coli</i> O157)	–(s.o <i>E. coli</i> O157-st erinev)	+(s.o <i>E. coli</i> O157)	–(s.o <i>E. coli</i> O157-st erinev)
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	+	59	0	52	0
	-	1	60	0	43

Tabel 2. Andmete statistiline analüüs

	Tundlikkuse %	Spetsiifilisuse %
SMAC		
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	98,3	100
CT-SMAC		
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	100	100

SMAC-agaril andis üks kultuur, *E. coli* O157:H9, valenegatiivse tulemuse. Kultuur oli negatiivne ka konkureeriva ettevõtte komplekti analüüsis ja seepärast seda uuesti ei analüüsitud. Organism ei olnud verotsütotoksiini tootev *E. coli* (VTEC-) tüvi. Komplekt ei tuvastanud valesti ühtegi VTEC-tüve.

Kokku koguti analüüsiks SMAC-lt 65 ja CT-SMAC-lt 52 sorbitooli kääritavat *-E. coli* O157-st erinevat tüve. Ükski ei andnud *E.coli* O157 lateksanalüüsis positiivset tulemust. Üks sorbitooli kääritav tüvi (*Klebsiella oxytoca*) osutus komplektiga iseaglutineeruvaks. Kordusanalüüsis osutus see sorbitoolpositiivne tüvi negatiivseks.

14. VIITED

1. Borczyk A, Lior H, Crebin B (1987) *Int. J. Food. Microbiol.* 4, 347–349.

2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) *Infect. Immun.* 18, 775–779.

3. Scotland S., Day N. ja Rowe B. (1980) *FEMS. Microbiol. Lett*,7, 15–17.

4. Centres for Disease Control (1982) *Morbid Mortal Wkly* 31, 580–585.

5. Karmali M, Still, B., Petrick M. ja Lim C. (1983), *Lancet* i, 619–620.

6. Johnson, W., Liroh, H. ja Bezanson. (1983) *Lancet* i, 76.

7. March S. ja Ratnam (1986) *J.Clin. Microbiol.* 23. 869–872.

8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S. ja Behme R. (1987) *J. Clin. Microbial.* 25, 1043–1047.

9. P.A.Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying *Escherichia coli* O157. 42: 1109–1110.

10. Brenner *et al.* (1982) *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 15 No.4, lk 703.

11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. *et al.* (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of *Escherichia coli* O157. *J. Clin. Microbiol.* 35, 679–684

15. SÜMBOLITE SELETUS

REF	Katalooginumber
IVD	<i>In vitro</i> diagnostiline meditsiinisead
	Tutvuge kasutusjuhendiga
	Temperatuuripiirangud (ladustustemperatuur)
	Sisaldab piisavat kogust <N> analüüsi jaoks
LOT	Partiikood
	Aegumiskuupäev
EC REP	Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses
	Tootja



IFU X4147D, revideeritud Trükitud Ühendkuningriigis
oktoobris 2021



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW, Ühendkuningriik



Avainkoodi TSMX4147D
www.oxid.com/ifu

Eurooppa 00800 135 79 135 USA +1 855 2360 190
Kanada +1 855 805 8539 Muu maailma +31 20 794 7071

E.coli O157 -lateksitesti

REF DR0620M..... ▽ 100

1. KÄYTTÖTARKOITUS

Kvalitatiivinen lateksialuslevyagglutinaatiotesti agarilla kasvatettujen *E. coli*n seroryhmän O157 isolaattien vahvistettuun tunnistukseen. Käytetään diagnostisessa työnkulussa terveydenhuoltohenkilökunnan apuna sellaisten potilaiden hoidossa, joilla epäillään bakteeritartuntaa. Laite ei ole automaattinen, se on tarkoitettu vain ammattilaiskäyttöön eikä se ole kumppanidiagnostiikkaa.

2. YHTEENVETO JA TESTIN PERIAATE

Lateksiagglutinaatiotesti *E. coli*n seroryhmän O157 tunnistukseen.

Tietyt *Escherichia coli*n kannat on liitetty hemorragisen koliitin (HC) ja hemolyyttisen virtsamyrkytysoireyhtymän (HUS) tapauksiin.

On osoitettu, että nämä kannat tuottavat verosytotoksiinia (VT). HC- ja HUS-tapauksista useimmin eristetty *E. coli*n serotyyppi on O157:H7. Tämän serotyypin eristys ripuliulosteesta, erityisesti kun ulosteessa on verta, viittaa verosytotoksiinia tuottavaan kantaan^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}.

E. coli O157 -lateksitesti osoittaa aluslevyagglutinaatiolla *E. coli* -kannat, joissa on O157-seroryhmän antigeeni. Testi toimii parhaiten käytettynä yhdessä MacConkey-sorbitoliagarin (Oxoid CM0813) kanssa. *E. coli* O157:H7 -kannat eivät fermentoi sorbitolia ja tuottavat siksi värittömiä pesäkkeitä tässä kasvualustassa. Suurin osa *E. coli* -isolaateista fermentoi sorbitolia ja tuottaa tunnusmerkillisiä vaaleanpunaisia pesäkkeitä.

MacConkey-sorbitoliagaria on käytettävä ensisijaisena seulontana. Sorbitolia fermentoimattomat pesäkkeet voidaan sitten testata lateksireagensseilla, jotta voidaan määrittää, kuuluuko isolaatti O157-seroryhmään ja onko se siten mahdollisesti VT:tä tuottava kanta.

3. SARJAN KOMPONENTIT

DR0621M-testilateksi

Koostuu sinisistä lateksihiukkasista, jotka on herkistetty spesifisellä kaniinin vasta-aineella, joka reagoi somaattisiin O157-antigeneihin. Yksi sarja sisältää riittävästi reagenssia 100 testiin.

DR0622M-kontrollilateksi

Koostuu sinisistä lateksihiukkasista, jotka on herkistetty kaniinin esi-immunoglobuliineilla. Yksi sarja sisältää riittävästi reagenssia 100 testiin.

DR0623M positiivinen kontrollisuspensio
Suspensio, jossa on inaktivoituja *E. coli* O157 -soluja puskurissa. Riittää 25 testiin.

DR0624M negatiivinen kontrollisuspensio
Suspensio, jossa on inaktivoituja *E. coli* O116 -soluja puskurissa. Riittää 25 testiin.

DR0500G-reaktiokortit

Sarjassa on 35 kertakäyttöistä reaktiokorttia.

Käyttöohjeet (IFU).

4. TARVITTAVAT MATERIAALIT

Seuraavat materiaalit ovat tarpeen, mutta niitä ei toimiteta sarjan mukana.

Mikrobiologinen silmukka ja bunsenlamppu.

0,85-prosenttista keittosuolaa.

Sopivaa desinfiointiainetta, esim.

natriumhypokloriittiliuosta > 1,3 % w/w.

Ajastin

5. VAROTOIMET

IVD Reagenssit on tarkoitettu vain *in vitro* -diagnostiseen käyttöön.

Vain ammattilaiskäyttöön.

Toimintahäiriön sattuessa laitetta ei saa käyttää.

Katso lisätietoa mahdollisesti vaarallisista komponenteista käyttöturvallisuustiedotteesta, joka on saatavilla yrityksen verkkosivuilta, ja tuotteen merkinnöistä.

Kaikki vakavat laitteeseen liittyvät tapahtumat on ilmoitettava valmistajalle ja käyttäjän ja/tai potilaan sijaintimaan toimivaltaisille viranomaisille.

Ei saa pakastaa.

Eri eristä peräisin olevia reagensseja ei saa sekoittaa.

Reagenssit sisältävät 0,1 % natriumatsidia säilöntäaineena.

Natriumatsidi voi reagoida lyijy- tai kupariputkien kanssa ja tuottaa metalliatsideja, jotka ovat räjähdysvaarallisia kosketuksesta. Jotta atsideja ei kerry putkistoon, huuhtelee putkisto runsaalla määrällä vettä heti jätteen hävityksen jälkeen.

Koska näytemateriaalit voivat sisältää patogeeneja organismeja niitä on käsiteltävä asianmukaisesti varoen.

6. SÄILYTYS

Sarjaa on säilytettävä lämpötilassa 2–8 °C. Näissä olosuhteissa reagenssien reaktiivisuus säilyy sarjan kotelossa ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään asti.

7. KONTROLLITOIMENPITEET

Lateksireagenssien oikeanlainen toiminta on tarkistettava mukana toimitettujen kontrollisuspensioiden avulla joka päivä ennen rutiininaisten testien tekemistä.

Positiivisen kontrollin suspension on aiheutettava näkyvää agglutinaatiota testilateksireagenssissa 1 minuutin sisällä.

Negatiivinen kontrollisuspensio ei saa aiheuttaa agglutinaatiota testi- ja kontrollilateksissa 1 minuutin sisällä.

Älä käytä testiä, jos reaktiot kontrollisuspensioiden kanssa ovat virheellisiä.

8. TÄRKEITÄ HUOMAUTUKSIA TOIMENPITEESTÄ

Älä anna reagenssien kontaminoitua antamalla pipetin kärjen koskea reaktiokortilla olevaan näytteeseen.

Tarkista, että korkit on kiinnitetty tiukasti käytön jälkeen, jotta reagenssi ei kontaminoidu tai kuivu.

Käytön jälkeen palauta sarja jääkaappiin ja varmista, että pulloja säilytetään pystyasennossa.

9. VIILJELYMATERIAALI

Muut kuin sorbitolia fermentoivat (NSF) pesäkkeet voidaan ottaa MacConkey-sorbitoliagarilta (Oxoid CM0813) tai vaihtoehtoisesti NSF-isolaatteja voidaan inokuloida ei-selektiiviseen kasvualustaan, kuten ravintoaineagarin, testausta varten. On tarpeen testata enintään 10 erillistä NSF-pesäkettä, jotta voidaan varmistaa suuri todennäköisyys havaita kaikki O157-kannat, jotka voivat olla sekaviljelyssä muiden serotyyppien NSF *E. Colin* kanssa. Kontrollilateksin käyttö varmistaa, että isolaatti ei ole autoagglutinoiva kanta.

10. TESTIMENETELMÄ

- Anna reagenssin tasaantua huoneenlämpöön ennen käyttöä. Varmista, että lateksisuspensiot sekoitetaan ravistamalla voimakkaasti. Poista kaikki lateksi pipetistä täydellistä sekoitusta varten.
- Lisää 1 tippa testilateksia reaktiokortin ympyrään. Aseta se lähelle ympyrän reunaa.
- Lisää joitakin silmukallisia tai pasteur-pipetitippa keittosuolaa ympyrään. Varmista, etteivät lateksi ja keittosuola sekoitu tässä vaiheessa.
- Poimi silmukalla testattavan pesäkkeen osa ja varovasti emulgoi se keittosuolatippaan. Tarkista, että saatu suspensio on tasainen.
- Sekoita testilateksi ja suspensio yhteen ja levitä silmukalla peittämään reaktioalue. Liekitä silmukka.
- Keinuta korttia pyöreällä liikkeellä ja tarkkaile sitä agglutinaation varalta. Älä keinuta korttia yli 1 minuutin ajan äläkä käytä suurenuslasia.
- Jos agglutinaatiota ei tapahdu, jatka muiden NSF-pesäkkeiden testausta, jos niitä on.
- Mikäli testilateksiagglutinaatiota tapahtuu, on tarpeen testata lisäosa pesäkkeestä kontrollilateksireagenssilla sen varmistamiseksi, että isolaatti ei ole autoagglutinoivaa kantaa.
- Kun olet valmis, hävitä reaktiokortti desinfiointiaineeseen.

11. TESTITULOSTEN TULKINTA

Testilateksin agglutinaatio yhden minuutin sisällä on positiivinen tulos. Tämä osoittaa *E. coli* -seroryhmän O157 läsnäolon.

Mikäli agglutinaatiota ei ilmene yhden minuutin sisällä, tulos on negatiivinen. Tämä osoittaa *E. coli* -seroryhmän O157 puuttumisen.

Tuloksia ei voi tulkita, jos sekä testi- että kontrollilateksissa on agglutinaatiota.

Rakeiset tai lankamaiset reaktiot

Joskus voi näkyä rakeisia tai lankamaisia reaktioita testimateriaalin hiukkasluonteen vuoksi. Kun sellaisia reaktioita näkyy, ne on tulkittava seuraavilla kriteereillä:

Tulos on positiivinen, kun käytettäessä testireagenssia tapahtuu suurempi sinisen taustan puhdistuminen verrattuna kontrollireagenssin reaktioon. Tulos on negatiivinen, kun sinisen taustan puhdistumisessa ei ole merkittäviä muutoksia käytettäessä testi- ja kontrollireagensseja.

Joitakin *E. coli* -kantoja on vaikea emulgoida keittosuolaan, ja ne voivat tuottaa lankamaisen reaktion sekä testi- että kontrollireagensseilla. Tämä ei näytä todellisen agglutinaation kaltaiselta ja on jätettävä huomiotta. Jos lankamaisuus katsotaan liian voimakkaaksi, että voitaisiin tehdä oikeanlainen päätös, silloin on suspendoitava pesäke 0,3 ml:aan keittosuolaa. Anna paakkujen asettua ja testaa tämä tasainen supernatantti uudelleen.

12. TESTIN RAJOITUKSET

Jos tuntemattoman lajin pesäkkeestä saadaan positiivinen tulos, on biokemiallisilla testeillä varmistettava, että organismi on *E. coli* -kanta.

MacConkey-sorbitoliagar- tai *E. coli* O157 -lateksitesti eivät kumpikaan suoraan vahvista isolaattia toksiinia tuottavaksi kannaksi.

Muita serotyyppijä on löydetty, jotka tuottavat verosytotoksiinia.

Lisäksi on tunnistettu muita bakteerikantoja, joiden epitoopit muistuttavat *E. coli* O157 -lipopolysakkaridin epitooppeja.¹¹

Jotkin *Escherichia hermanii* -kannat reagoivat *E. coli* O157 -seerumien ja lateksitestin kanssa yhteisen antigeenin (Borczyk ym.) takia.¹ *E. hermaniin* voi erottaa *E. colista*, koska se fermentoi sellulobioosia, kasvaa kaliumsyaniidin (KCN) läsnä ollessa ja tuottaa keltaista pigmenttiä, mikä voi olla viivästyntä¹⁰.

13. SUORITUSKYKYOMINAISUUDET

Oxoid *E. coli* O157 -lateksitestin ja kaupallisesti saatavilla olevien antiseerumien suorituskyvyn klinisissä vertailussa tulokset osoittivat 99,3 %:n (151/152) yhtäpitävyyden näiden kahden menetelmän välillä⁹. Oxoid-testien herkkyyks oli 100 % (49/49) ja spesifisyys 99,0 % (101/103). Ristiriitaiselle näytteelle tehtiin lisätestejä ja sen havaittiin olevan *E. coli* O157 -positiivinen. Tämä oli yhtäpitävää Oxoid-testituloksen kanssa.

Oxoid-reagensseissa ei ilmennyt ristireaktiivisuutta muiden *E. coli* -kantojen tai ei-sorbitolia fermentoivien organismien kanssa.

Oxoid-testi tehtiin suoraan lukuisilta kasvualustoilta otetuille pesäkkeille. Minkään näistä kasvualustoista ei havaittu aiheuttavan häiriöitä lateksitestissä.

E. coli O157 -lateksitestin suorituskyky arvioitiin Central Public Health Laboratory (CPHL) -laboratoriossa, Isossa-Britanniassa, enteristen patogeenien laboratoriossa (1998), käyttämällä täysin luokiteltuja kohde- ja ei-kohdeorganismien kantoja.

Kaikki kannat testattiin MacConkey-sorbitoliagarille (SMAC) ja kefiksiimitteliittiläisä sisältävälle MacConkey-sorbitoliagarille (CT-SMAC) aliviljelemisen jälkeen. Pienempi määrä organismeja testattiin CT-SMAC:sta, koska sen selektiivisen luoteen takia joitakin organismeja ei voitu viljellä tällä kasvualustalla.

Herkkyyks laskettiin tunnettujen *E. coli* O157 -kantojen testaustuloksista. Sekä sorbitolinegatiivisia että sorbitoliposiitiivisia kantoja testattiin ja käytettiin laskemisessa. Spesifisyys laskettiin tunnettujen ei-sorbitolia fermentoivien (NSF), ei-*E. coli* O157 -kantojen (ts. muut organismit, kuten muut *E. coli* -kannat) testaustuloksista.

Taulukko 1. SMAC- ja CT-SMAC-viljeltyjen organismien testaustulokset.

		SMAC (n = 120)		CT-SMAC (n = 95)	
		Organismi			
		+ (ts. <i>E. coli</i> O157)	- (ts. ei- <i>E. coli</i> O157)	+ (ts. <i>E. coli</i> O157)	- (ts. ei- <i>E. coli</i> O157)
<i>E. coli</i> O157 -lateksitesti	+	59	0	52	0
	-	1	60	0	43

Taulukko 2. Tietojen tilastollinen analyysi.

	Herkkyys-%	Spesifisyys-%
SMAC		
<i>E. coli</i> O157 -lateksitesti	98,3	100
CT-SMAC		
<i>E. coli</i> O157 -lateksitesti	100	100

SMAC-agarilla yksi viljely, *E. coli* O157:H9, antoi virheellisesti negatiivisen tuloksen. Tämä viljelmä oli negatiivinen myös testattaessa se kilpailijan sarjalla, ja siksi sitä ei testattu uudelleen. Tämä organismi ei ole verosytotoksiinia tuottavaa *E. coli* (VTEC) -kantaa. Sarja ei tunnistanut väärin yhtään VTEC-kantaa.

Lisäksi yhteensä 65 sorbitolia fermentoivaa ei-*E. coli* O157 -kantaa testattiin SMAC-agareista ja 52 CT-SMAC-agareista. Mikään ei tuottanut positiivista tulosta *E.coli* O157 -lateksitestissä. Sarjan avulla yhden sorbitolia fermentoivan kannan (*Klebsiella oxytoca*) havaittiin olevan autoagglutinoiva. Toistotestauksessa tämä sorbitolipositiivinen kanta todettiin negatiiviseksi.

14. VIITTEET

1. Borczyk A. Lior H. Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.

2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.

3. Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett,7, 15-17.

4. Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.

5. Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983), Lancet i,619-620.

6. Johnson, W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.

7. March S., and Ratnam (1986) J.Clin. Microbiol.23. - 869-872.

8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbial. 25, 1043-1047.

9. P.A.Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying Escherichia coli O157.42:1109-1110.

10. Brenner et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No. 4 p.703

11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of Escherichia coli O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679–684

15. SYMBOLIEN SELITYS

	Luettelonumero
	In vitro -diagnoosiin tarkoitettu lääkinällinen laite
	Katso käyttöohjeet (IFU)
	Lämpötilarajoitukset (säilytyslämpötila)
	Sisältö riittää <n> testiin
	Eräkoodi (eränumero)
	Viimeinen käyttöpäivä
	Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä
	Valmistaja



IFU X4147D, Tarkistettu Painettu
lokakuussa 2021 Isossa-Britanniassa

 Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Iso-Britannia



Kulcskód: TSMX4147D
www.oxid.com/ifu

Európa: 00800 135 79 135 Egyesült Államok: 1 855 2360 190
Kanada: 1 855 805 8539 A világ többi része: +31 20 794 7071

E. coli O157 Latex teszt

REF DR0620M..... 100

1. RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Kvalitatív latex tárgylemez-agglutinációs teszt az *E. coli* O157 szerocsoport agaron kitenyészett izolátumainak megerősítő azonosításához. Diagnosztikai munkafolyamatban használható, hogy segítse a klinikusokat a bakteriális fertőzésre gyanús betegek kezelési lehetőségeinek kiválasztásában. Az eszköz nem automatizált, kizárólag szakemberek általi használatra szolgál, és nem kötelező diagnosztikai eszköz.

2. A VIZSGÁLAT ÖSSZEFOGLALÁSA ÉS ELVE

Latex agglutinációs teszt az *E. coli* O157 szerocsoport azonosításához.

Bizonyos *Escherichia coli* törzsek kapcsolatba hozhatók a vérzéses vastagbélgyulladás (hemorrhágiás kolitisz – HC) és a hemolitikus urémiás szindrómával (HUS).

A kutatások azt igazolják, hogy ezek a törzsek verocitotoxinokat (VT) termelnek. A HC és a HUS eseteknél leggyakrabban izolált *E. coli* szerotípus az O157:H7. Ennek a szerotípusnak az izolálása hasmenéses székletmintából, különösen, ha a széklet vért is tartalmaz, verocitotoxin-termelő törzsre utal.^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}

Az *E. coli* O157 latex teszt tárgylemez-agglutinációval mutatja ki az O157 szerocsoport antigént tartalmazó *E. coli* törzseket. A tesztet MacConkey szorbit agar (Oxoid CM0813) táptalajjal együtt érdemes használni. Az *E. coli* O157:H7 törzsek nem fermentálják a szorbitot, ezért ezen a táptalajon szintelen telepeket képeznek. Az *E. coli* izolátumok többsége fermentálja a szorbitot, és jellemző rózsaszín telepeket képez.

Elsődleges szűrőként MacConkey szorbit agart kell használni. Ezután a szorbitot nem fermentáló telepeket a latexreagensekkel vizsgálva megállapítható, hogy az izolátum az O157 szerocsoportéhoz tartozik-e, és így módon potenciális VT-termelő törzsnek számít-e.

3. A KÉSZLET ÖSSZETEVŐI

DR0621M Vizsgálati latex

Az O157 szomatikus antigénnel reagáló specifikus nyúl antitesttel szenzibilizált kék latex részecskékből áll. Az egyes készletek 100 teszthez elegendő reagenst tartalmaznak.

DR0622M Kontroll latex

Nyúl preimmun imunglobulinokkal szenzibilizált kék latex részecskékből áll. Az egyes készletek 100 teszthez elegendő reagenst tartalmaznak.

DR0623M Pozitív kontroll szuszpenzió

Inaktívált *E. coli* O157 sejtek szuszpenziója pufferben. 25 teszthez elegendő.

DR0624M Negatív kontroll szuszpenzió

E. coli O116 sejtek szuszpenziója pufferben. 25 teszthez elegendő.

DR0500G Reakciókártyák

A készlet 35 egyszer használatos reakciókártyát tartalmaz.

Használati útmutató (IFU).

4. SZÜKSÉGES ANYAGOK

Szükséges, a készlet által nem tartalmazott anyagok

oltókacs és Bunzen-égő;

0,85%-os sóoldat;

megfelelő fertőtlenítőszer, például nátrium-hipoklorit oldat (> 1,3% w/w);

stopper.

5. ÓVINTÉZKEDÉSEK

IVD A reagensek kizárólag *in vitro* diagnosztikai célokra használhatók.

Kizárólag szakemberek általi használatra.

Ha az eszköz hibásan működik, ne használja.

A potenciálisan veszélyes összetevőkkel kapcsolatos információk a vállalat weboldalán elérhető biztonsági adatlapon (MSDS) és a termékcímkén találhatók.

A készülékkel összefüggő minden súlyos váratlan eseményt jelenteni kell a gyártónak, valamint annak a tagállamnak az illetékes hatósága felé, ahol a felhasználó és/vagy a beteg tartózkodik.

Ne fagyassza le!

Ne keverje a különböző tételszámú reagenseket.

A reagensek 0,1% nátrium-azid tartósítószerrel tartalmaznak.

Anátrium-azidólom-vagyirézscsövekkelreakcióbalépvéfmé-azidokat hozhat létre, amelyek kis energia hatására robbannak (contact detonation). Az azidok vízcsoveknak való felhalmozódásának megelőzése érdekében hulladékháztartástanítás után azonnal öblítse át a csöveket bőséges mennyiségű vízzel.

A vizsgálati mintákat megfelelő körülményekkel kell kezelni, mivel kórokozó mikroorganizmusokat tartalmazhatnak.

6. TÁROLÁS

A készletet 2–8 °C-on kell tárolni. Ilyen körülmények között a reagensek a készlet dobozán feltüntetett lejárati dátumig megőrzik reaktivitásukat.

7. ELLENŐRZÉSI ELJÁRÁSOK

A rutinvizsgálatok végrehajtása előtt a készletben található kontroll szuszpenziókkal minden nap ellenőrizni kell a latexreagensek megfelelő működését.

A pozitív kontroll szuszpenzióknak egy percen belül látható agglutinációt kell kiváltania a vizsgálati latexreagensekkel.

A negatív kontroll szuszpenzió egy percen belül nem válthat ki agglutinációt a vizsgálati és a kontroll latexreagensekkel.

Ha a kontroll szuszpenziókkal való reakciók nem megfelelőek, ne használja a tesztet.

8. ELJÁRÁSRA VONATKOZÓ FONTOS MEGJEGYZÉSEK

Ne érintse a cseppentő hegyét a reakciókártyán lévő vizsgálati mintához, nehogy szennyeződjene a reagensek.

Használat után a szennyeződések elkerülése és a reagensek kiszáradásának megakadályozása érdekében ügyeljen a kupakok szoros rögzítésére.

Használat után tegye vissza a készletet a hűtőszekrénybe, ügyelve arra, hogy a flakonok függőleges helyzetben maradjanak.

9. KULTÚRÁK

Szorbitot nem fermentáló (NSF) telepek MacConkey szorbit agarról (Oxoid CM0813) nyerhetők. Másik lehetőségként a vizsgálathoz nem szelektív táptalajokra, például tápagarra NSF-izolátumokat lehet leoltani. Ahhoz, hogy nagy valószínűséggel detektálni lehessen az esetleg más szerotípusú NSF *E. coli* baktériumokkal kevert tenyészetben előforduló O157 törzseket, akár 10 különálló NSF telep vizsgálatára is szükség lehet. A kontroll latex segítségével lehet meggyőződni arról, hogy az izolátum nem autoagglutináló törzs.

10. VIZSGÁLATI MÓDSZER

- Használat előtt hagyja a reagenseket szobahőmérsékletre melegedni. Erőteljes rázogatóással jól keverje össze a latexszuszpenziókat. A teljes keveredés érdekében az összes latexet távolítsa el a cseppentő pipettából.
- Cseppentsen 1 csepp vizsgálati latexet a reakciókártyán lévő egyik körre. A cseppet a kör szélének közelébe cseppentsen.
- Juttasson néhány kacsnyi sóoldatot, vagy Pasteur-pipettával cseppentsen egy csepp sóoldatot a körre. Ügyeljen arra, hogy ebben a fázisban a latex ne keveredjen a sóoldattal.
- Vegyen ki egy kacsnyit a vizsgálandó telepéből, és óvatosan emulgeálja a sóoldatcseppben. Ügyeljen arra, hogy a képződő szuszpenzió sima, csomómentes legyen.
- Keverje össze a vizsgálati latexet és a szuszpenziót, és az oltókacs segítségével oszlassa el a reakcióterületen úgy, hogy a teljes területet befedje. Lángon fertőtlenítsen az oltókacsot.
- Körkörösön mozgassa a kártyát, és figyelje, hogy van-e agglutináció. 1 percnél tovább ne mozgassa a kártyát, és ne használjon nagyítót.
- Ha nem következik be agglutináció, végezze el az esetleges többi NSF telep vizsgálatát.
- Ha agglutináció lép fel a vizsgálati latexszel, a kontroll latex reagenssel el kell végezni a telep egy másik részének vizsgálatát, hogy ki lehessen zárni az izolátum „autoagglutináló törzs” jellegét.
- A vizsgálat befejezése után helyezze fertőtlenítőszerbe a reakciókártyát.

11. A VIZSGÁLATI EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE

A vizsgálati latex egy percen belüli agglutinációja pozitív eredményt jelez. A pozitív eredmény az *E. coli* O157 szerocsoport jelenlétére utal.

Ha egy percen belül nem lép fel agglutináció, az eredmény negatív. A negatív eredmény azt jelenti, hogy nincs jelen *E. coli* O157 szerocsoport.

Ha mind a vizsgálati, mind a kontroll latexnél agglutináció észlelhető, az eredmények nem értelmezhetők.

Szemcsézettséget vagy szálasodást eredményező reakciók

Egyes esetekben a vizsgálati anyag szemcsés jellege miatt szemcsézettséget vagy szálasodást eredményező reakciók figyelhetők meg. Az ilyen reakciókat az alábbi feltételek alapján kell értelmezni:

Ha a kontroll reagenshez képest a vizsgálati reagens alkalmazásakor jobban kitisztul a kék háttér, az eredmény pozitív. Ha a kék háttér kitisztulását tekintve nincs szignifikáns változás a vizsgálati és a kontroll reagens alkalmazásakor, az eredmény negatív.

Némely *E. coli* törzs sóoldatban nehezen emulgeálható, és előfordulhat, hogy mind a vizsgálati, mind a kontroll reagenssel reagálva szálasodik, nyúlóssá válik. Ez nem valós agglutináció, figyelmen kívül kell hagyni. Ha a szálasodás túl jelentős ahhoz, hogy megfelelő döntést lehessen hozni, a telepet 0,3 ml sóoldatban kell szuszpendálni. Hagyja, hogy a darabos részek leülepedjenek, és a sima, csomómentes felülúszóval végezze el újra a vizsgálatot.

12. A TESZT KORLÁTAI

Ismeretlen fajokból álló telepen kapott pozitív eredmény esetében biokémiai teszteket kell végezni annak megerősítésére, hogy a mikroorganizmus *E. coli* törzsbe tartozik-e.

Sem a MacConkey szorbit agar, sem az *E. coli* O157 latex teszt segítségével nem lehet közvetlenül megerősíteni, hogy az izolátum valóban toxintermelő törzs.

Más szerotípusokról is kiderült, hogy verocitotoxin-termelők.

Továbbá más olyan baktériumtörzseket is azonosítottak, amelyek építőpajai utánozzák az *E. coli* O157 lipopoliszacharidjában található építőpajokat.¹¹

Egy közös antigén miatt az *Escherichia hermannii* törzsek keresztreakcióba léphetnek az *E. coli* O157 tartalmú szérumokkal és a latex tesztel (Borczyk és mtsai).¹ Az *E. hermannii* a következők alapján különböztethető meg az *E. coli* baktériumtól: fermentálja a cellobiózt, kálium-cianid (KCN) jelenlétében szaporodik és sárga pigmentet képez, ami késleltetett lehet.¹⁰

13. TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

Az Oxoid *E. coli* O157 latex teszt és a kereskedelembe kapható antiszérum teljesítményének klinikai összehasonlítása alapján kapott eredmények 99,3%-os (151/152) egyezést mutattak a két módszer között.³ Az Oxoid teszt szenzitivitása 100% (49/49), specificitása pedig 99,0% (101/103) volt. Az eltérő eredményt adó minta a tovább vizsgálatok alapján pozitívnak bizonyult az *E. coli* O157 törzsre. Ez összhangban volt az Oxoid teszt eredményével.

Az Oxoid reagensek nem mutattak keresztreaktivitást más *E. coli* törzsekkel, és a szorbitot nem fermentáló mikroorganizmusokkal sem.

Az Oxoid tesztet különféle táptalajokból közvetlenül végezték. Ezek közül egyik sem mutatott interferenciát a latex tesztel.

Az *E. coli* O157 latex teszt teljesítményét az Egyesült Királyság Központi Közegészségügyi Laboratóriumának (CPHL) bélben előforduló kórokozókat vizsgáló részlegében értékelték (1998), cél- és nem cél-mikroorganizmusok jól jellemzett törzseit használva.

Valamennyi törzs vizsgálatát MacConkey szorbit agarra (SMAC), valamint cefixim és tellurit tartalmú MacConkey szorbit agarra (CT-SMAC) való továbboltást követően végezték. A CT-SMAC agar esetében, annak szelektív jellege miatt, kevesebb volt a vizsgált mikroorganizmusok száma; egyes mikroorganizmusok nem tenyészthetők ezen a táptalajon.

Aszenzitivitást ismert *E. coli* O157 törzsek vizsgálata alapján kapott eredményekből számolták. Szorbit-negatív és szorbit-pozitív törzseket is vizsgáltak és használtak a számításához. A specificitást szorbitot nem fermentáló (NSF) ismert, nem *E. coli* O157 törzsek (vagyis más mikroorganizmusok, például más *E. coli* törzsek) eredményeiből számolták.

1. táblázat SMAC és CT-SMAC táptalajon kitenyészett mikroorganizmusok vizsgálatának eredményei

		SMAC (n = 120)		CT-SMAC (n = 95)	
		Mikroorganizmus			
		+ (vagyis <i>E. coli</i> O157)	– (vagyis nem <i>E. coli</i> O157)	+ (vagyis <i>E. coli</i> O157)	– (vagyis nem <i>E. coli</i> O157)
<i>E. coli</i> O157 Latex teszt	+	59	0	52	0
	–	1	60	0	43

2. táblázat Az adatok statisztikai elemzése

	Szenzitivitás, %	Specifititás, %
SMAC		
<i>E. coli</i> O157	98,3	100
Latex teszt		
CT-SMAC		
<i>E. coli</i> O157	100	100
Latex teszt		

A SMAC agaron egyetlen kultúra, egy *E. coli* O157:H9 adott álnegatív eredményt. Ez a tenyészet a konkurens készlettel vizsgálva is negatív volt, ezért újrvizsgálatára nem került sor. Ez a mikroorganizmus nem verocitotoxin-termelő *E. coli* (VTEC) törzs. A készlettel az összes VTEC törzs sikeresen azonosításra került.

Ezen kívül a SMAC táptalajról összesen 65, a CT-SMAC táptalajról pedig 52, szorbitot fermentáló, nem *E. coli* O157 törzs vizsgálatát végezték el. Egyik sem adott pozitív eredményt az *E. coli* O157 latex teszttel. A szorbitot fermentáló törzsek közül az egyiknél (*Klebsiella oxytoca*) a készlettel vizsgálva autoagglutináció lépett fel. A megismételt vizsgálat során ez a szorbit-pozitív törzs negatívnak bizonyult.

14. SZAKIRODALOM

1. Borczyk A. Lior H. Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.
2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.
3. Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett, 7, 15-17.
4. Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.
5. Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983), Lancet i, 619-620.
6. Johnson, W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.
7. March S., and Ratnam (1986) J. Clin. Microbiol. 23. - 869-872.
8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbiol. 25, 1043-1047.
9. P.A. Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying *Escherichia coli* O157. 42:1109-1110.
10. Brenner et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No. 4 p. 703
11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of *Escherichia coli* O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679–684

15. JELMAGYARÁZAT

REF	Katalógusszám
IVD	<i>In vitro</i> diagnosztikai orvostechnikai eszköz
	Olvassa el a használati utasítást
	Hőmérséklet-korlátozások (tárolási hőmérséklet)
	A tartalma <N> vizsgálathoz elegendő
LOT	Tételkód (tételszám)
	Felhasználhatóság dátuma (lejárati dátum)
EC REP	Hivatalos képviselő az Európai Közösségben
	Gyártó



IFU X4147D, felülvizsgálva
2021 októberében



Készült az
Egyesült Királyságban
Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW, Egyesült Királyság



Pagrindinis kodas TSMX4147D
www.oxid.com/ifu

Europa 00800 135 79 135 JAV 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539 Kitos vietovės: +31 20 794 7071

„E. coli O157 Latex“ tyrimas

REF DR0620M.....  100

1. NUMATYTASIS NAUDOJIMAS

Kokybinis latekso agliutinacijos tyrimas ant objekcinio stiklelio, skirtas atlikti ant agaro užaugintų *E. coli* O157 serologinės grupės izoliatų patvirtinamąjį nustatymą. Naudojamas diagnostikoje, kad padėtų gydytojams parinkti gydymą pacientams, kuriems įtariama bakterinė infekcija. Priemonė nėra automatinė, skirta naudoti tik profesionalams ir nėra papildoma diagnostikos priemonė.

2. SANTRAUKA IR NAUDOJIMO PRINCIPAI

Latekso agliutinacijos tyrimas, skirtas identifikuoti *E. coli* O157 serologinę grupę.

Kai kurios *Escherichia coli* padermės buvo susietos su hemoraginio kolito (HC) ir hemolizinio ureminio sindromo (HUS) atvejais.

Nustatyta, kad šios padermės gamina verocitotoksiną (VT). *E. coli* serologinis tipas, dažniausiai išskiriamas HC ir HUS atvejais, yra O157:H7. Jeigu šis serologinis tipas išskiriamas iš išmatų viduriavimo atvejais, ypač jeigu jose yra kraujo, tai reiškia, kad padermė gamina verocitotoksiną^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}.

E. coli O157 latekso tyrimas agliutinacijos ant objekcinio stiklelio būdu parodo *E. coli* padermes, turinčias O157 serologinės grupės antigeną. Tyrimą geriausia naudoti kartu su „Sorbitol MacConkey“ agaru („Oxoid“ CM0813). *E. coli* O157:H7 padermės nevykdo sorbitolio fermentacijos, todėl ant šios terpės auga bespalvės kolonijos. Dauguma *E. coli* izoliatų vykdo sorbitolio fermentaciją ir auga būdingos rausvos kolonijos.

„Sorbitol MacConkey“ agarą reikia naudoti kaip pirminį atrankinis patikros metodą. Sorbitolio nefermentuojančių kolonijų tyrimas galima atlikti naudojant latekso reagentus, norint nustatyti, ar izoliatas priklauso O157 serologinei grupei ir galimai VT gaminančiai padermei.

3. RINKINIO KOMPONENTAI

DR0621M Tyrimo lateksas

Sudarytas iš mėlynų latekso dalelių, įjautrintų specifiniais triušio antikūnais, reaguojančiais su O157 somatiniu antigenu. Kiekviename rinkinyje yra reagento, kurio pakanka 100 tyrimų.

DR0622M Kontrolinis lateksas

Sudarytas iš mėlynų latekso dalelių, įjautrintų preimuniniu triušio globuliniu. Kiekviename rinkinyje yra reagento, kurio pakanka 100 tyrimų.

DR0623M Teigiamos kontrolinės medžiagos suspensija

Inaktyvuotų *E. coli* O157 ląstelių suspensija buferiniame tirpale. Pakanka 25 tyrimams.

DR0624M Neigiamos kontrolinės medžiagos suspensija

E. coli O116 ląstelių suspensija buferiniame tirpale Pakanka 25 tyrimams.

DR0500G Reakcijos kortelės

Rinkinyje yra 35 vienkartinės reakcijos kortelės.

Naudojimo instrukcijos (IFU).

4. BŪTINOS MEDŽIAGOS

Toliau nurodytos medžiagos yra būtinos, bet nepateikiamos šiame rinkinyje

Mikrobiologinė kilpa ir Bunzeno degiklis

0,85 % fiziologinis tirpalas.

Tinkama dezinfekavimo priemonė, pvz., >1,3 % w/w natrio hipochlorito tirpalas.

Laikmatis

5. ATSARGUMO PRIEMONĖS

IVD Šie reagentai skirtai naudoti tik *in vitro* diagnostikai.

Skirta naudoti tik specialistams.

Nenaudokite priemonės, jeigu ji sugedusi.

Informaciją apie galimai pavojingas sudedamąsias dalis žr. įmonės interneto svetainėje pateiktame medžiagos saugos duomenų lape (MSDL) ir gaminio etiketėje.

Apie bet kokį pavojingą incidentą, susijusį su priemone, būtina pranešti gamintojui ir kompetentingai šalies narės, kurioje registruotas naudotojas ir (arba) pacientas, institucijai.

Neužšaldyti.

Reagentų, kurių partijos numeriai skiriasi, negalima maišyti vienas su kitu.

Reagentuose yra konservanto 0,1 % natrio azido.

Natrio azidas gali reaguoti su vandentiekio įrenginiuose esančiu švinu arba variu ir sudaryti metalų azidus, kurie sprogsa įvykus kontaktinei detonacijai. Po atliekų išmetimo jas nedelsdami nuplaukite dideliu kiekiu vandens, kad azidai nesikaupytų vandentiekio vamzdžiuose.

Mėginyje gali būti patogeninių mikroorganizmų, todėl juos tvarkykite laikydamiesi tinkamų atsargumo priemonių.

6. LAIKYMAS

Rinkinį laikykite nuo 2 iki 8 °C temperatūroje. Šiomis sąlygomis reagentai išlieka reaktyvūs iki galiojimo pabaigos datos, nurodytos ant rinkinio dėžutės.

7. KONTROLĖS PROCEDŪROS

Pateikiamas kontrolės suspensijas naudokite kiekvieną dieną prieš atlikdami įprastus tyrimus, kad patikrintumėte, ar latekso reagentas veikia tinkamai.

Teigiamos kontrolinės medžiagos suspensija turi per vieną minutę sukelti matomą tyrimo latekso reagento agliutinaciją.

Neigiamos kontrolinės medžiagos suspensija turi per vieną minutę nesukelti tyrimo latekso ir kontrolinio latekso agliutinacijos.

Nenaudokite tyrimo, jeigu reakcijos su kontrolinių medžiagų suspensijomis vyksta netinkamai.

8. SVARBI INFORMACIJA APIE PROCEDŪRĄ

Saugokite, kad neužterštumėte reagentų, todėl lašintuvo galiuku nepalieskite ant reakcijos kortelės esančio mėginio.

Po kiekvieno naudojimo tvirtai uždarykite dangtelius, kad neužterštumėte reagento ir jis neišdžiūtų.

Po naudojimo rinkinį įdėkite atgal į šaldytuvą ir užtikrinkite, kad buteliukai laikomi statmenai.

9. KULTŪROS MEDŽIAGA

Tyrimams skirtas sorbitolio nefermentuojančias (NSF) kolonijas galima paimti iš „Sorbitol MacConkey“ agaro („Oxoid“ CM0813) arba NSF izoliatus galima inokuliuoti ant neselektyvinės terpės, pavyzdžiui, mitybinio agaro. Reikia ištirti iki 10 atskirų NSF kolonijų, kad užtikrintumėte didelę kokių nors O157 padermių, galinčių būti kultūrų mišinyje su kitų serologinių tipų *E. coli*, aptikimo tikimybę Kontrolinis lateksas naudojamas siekiant užtikrinti, kad izoliatas nėra autoagliutinaciją sukelianti padermė.

10. TYRIMO METODAS

- Prieš naudojimą reagentai turi pasiekti kambario temperatūrą. Latekso suspensijas sumaišykite jas stipriai purtydami. Iš lašintuvo pipetės išspauskite visą likusį lateksą, kad užbaigtumėte maišymą.
- Užlašinkite 1 lašą tyrimo latekso ant reakcijos kortelės apskritimo. Užlašinkite jį šalia apskritimo krašto.
- Ant apskritimo užlašinkite kelias pilnas kilpas arba Pastero pipetės lašą fiziologinio tirpalo. Užtikrinkite, kad lateksas ir fiziologinis tirpalas šioje stadijoje nesusimaišytų.
- Kilpa paimkite dalį tiriamos kolonijos ir atsargiai sumaišykite su fiziologinio tirpalo lašu, kad susidarytų emulsija. Įsitikinkite, kad gauta suspensija yra tolygi.
- Kilpa sumaišykite tyrimo lateksą ir suspensiją bei paskirstykite, kad padengtų reakcijos sritį. Kilpą pakaitinkite liepsnoje.
- Judinkite kortelę ratu ir stebėkite, ar vyksta agliutinacija. Nejudinkite kortelės ilgiau nei 1 minutę ir nenaudokite didinamojo stiklo.
- Jeigu agliutinacija nevyksta, tirkite kitas NSF kolonijas, jeigu jų yra.
- Jeigu įvyksta agliutinacija su tyrimo lateksu, kitą kolonijos dalį reikia ištirti su kontroliniu lateksu ir įsitikinti, kad izoliatas nepriklauso autoagliutinaciją sukeliančiai padermei.
- Baigę išmeskite reakcijos kortelę į dezinfekavimo priemonę.

11. TYRIMO REZULTATŲ INTERPRETAVIMAS

Rezultatas yra teigiamas, jeigu per vieną minutę įvyksta tyrimo latekso agliutinacija. Tai reiškia, kad yra *E. coli* O157 serologinė grupė.

Rezultatas yra neigiamas, jeigu per vieną minutę neįvyksta agliutinacija. Tai reiškia, kad nėra *E. coli* O157 serologinės grupės.

Rezultatų negalima interpretuoti, jeigu įvyksta ir tyrimo latekso, ir kontrolinio latekso agliutinacija.

Reakcijos metu susidaro granulės arba pailgi agregatai

Kartais reakcijos metu susidaro granulės arba pailgi agregatai dėl tiriamosios medžiagos dalelių prigimties. Jeigu įvyko tokia reakcija, ją reikia aiškinti taikant toliau nurodytus kriterijus:

Rezultatas yra teigiamas, jeigu naudojant tyrimo reagentą mėlynas fonas tampa skaidresnis nei naudojant kontrolės reagentą. Rezultatas yra neigiamas, jeigu naudojant tyrimo reagentą ir kontrolės reagentą, nėra reikšmingų mėlynos fono skaidrumo pokyčių.

Kai kurių *E. coli* padermių emulsiją fiziologiniame tirpale gauti sunku, todėl tiek su tyrimo reagentais, tiek su kontroliniais reagentais reakcijos metu gali susidaryti pailgų agregatų. Jie neatrodo kaip tikroji agliutinacija ir jų reikėtų nepaisyti. Jeigu dėl tokių pailgų agregatų sunku teisingai interpretuoti tyrimo rezultatus, koloniją reikia suspenduoti 0,3 ml fiziologinio tirpalo. Palaukite, kol agregatai nusistovės, o tada pakartotinai ištirkite tolygų supernatantą.

12. TYRIMO APRIBOJIMAI

Jeigu ištyrus nežinomos rūšies koloniją gaunamas teigiamas rezultatas, reikia atlikti biocheminius tyrimus ir patvirtinti, kad mikroorganizmas priklauso *E. coli* padermei.

Nei tyrimas ant „Sorbitol MacConkey“ agaro, nei *E. coli* O157 latekso tyrimas tiesiogiai nepatvirtina, kad izoliatas priklauso toksinus gaminančiai padermei.

Buvo aptikta kitų verocitotoksiną gaminančių serologinių tipų.

Be to, buvo nustatyta kitų bakterijų padermių, turinčių epitopus, imituojančius *E. coli* O157 lipopolisacharidus.¹¹

Kai kurios *Escherichia hermanii* padermės gali dalyvauti kryžminėse reakcijose su *E. coli* O157 serumu ir latekso tyrimo reagentais, nes turi bendrą antigeną (Borczyk et al)¹. *E. hermanii* galima atskirti nuo *E. coli* , nes jos vykdo celobiozės fermentaciją, auga esant kalio cianido (KCN) ir gamina geltoną pigmentą, tačiau ši reakcija gali būti uždelsta¹⁰.

13. VEIKSMINGUMO CHARAKTERISTIKOS

Atlikus klinikinius „Oxoid“ *E. coli* O157 latekso tyrimo ir komercinio antiserumo veiksmingumo palyginimus, rezultatai parodė, kad dviejų metodų atitiktis siekė 99,3 % (151/152)⁹. „Oxoid“ tyrimo jautrumas buvo lygus 100 % (49/49), o specifiškumas buvo lygus 99,0 % (101/ 103). Nesutampantis mėginys buvo ištirtas papildomai ir buvo nustatyta, kad jame yra *E. coli* O157. Tai sutampa su „Oxoid“ tyrimo rezultatais.

„Oxoid“ reagentai nedalyvauja kryžminėse reakcijose su kitomis *E. coli* padermėmis arba sorbitolio nefermentuojančiais mikroorganizmais.

„Oxoid“ tyrimas buvo atliktas tiesiogiai, naudojant įvairias mitybines terpes. Nustatyta, kad nei viena iš šių terpių netrikdo latekso tyrimo.

E. coli O157 latekso tyrimo veiksmingumą įvertino Centrinė visuomenės sveikatos laboratorija (CPHL), JK, ir Enteropatogenų laboratorija (1998), naudodamos visiškai charakterizuotas tikslinių ir netikslinių mikroorganizmų padermes.

Visos padermės buvo ištirtos po subkultūros auginimo ant „Sorbitol MacConkey“ agaro (SMAC) ir „Sorbitol MacConkey“ agaro, kuriame yra cefiksimo telūrito priedo (CT-SMAC). Buvo ištirta mažiau ant CT-SMAC užaugintų mikroorganizmų, nes ši terpė yra selektyvinė, todėl kai kurie mikroorganizmai neauga ant šios terpės.

Jautrumas buvo apskaičiuotas remiantis žinomų *E. coli* O157 padermių tyrimų rezultatais. Jam apskaičiuoti buvo ištirtos ir naudojamos sorbitoliui neigiamos ir sorbitoliui teigiamos padermės. Specifiškumas buvo apskaičiuotas remiantis žinomų sorbitolio nefermentuojančių (NSF), ne *E. coli* O157 padermių (t. y. kitų mikroorganizmų, įskaitant kitas *E. coli* padermes) tyrimų rezultatais.

1 lentelė. Ant SMAC ir CT-SMAC užaugintų mikroorganizmų tyrimų rezultatai.

		SMAC (n=120)		CT-SMAC (n=95)	
		Mikroorganizmas			
		+ (t. y. <i>E. coli</i> O157)	- (t. y. ne <i>E. coli</i> O157)	+ (t. y. <i>E. coli</i> O157)	- (t. y. ne <i>E. coli</i> O157)
„ <i>E. coli</i> O157 Latex“ tyrimas	+	59	0	52	0
	-	1	60	0	43

2 lentelė. Statistinė duomenų analizė.

	Jautrumas, %	Specifiškumas, %
SMAC		
„E. coli O157 Latex“ tyrimas	98,3	100
CT-SMAC		
„E. coli O157 Latex“ tyrimas	100	100

Vienos ant SMAC agaro užaugintos kultūros *E. coli* O157:H9 rezultatas buvo klaidingai neigiamas. Šios kultūros rezultatas taip pat buvo neigiamas ištyrus kito gamintojo tyrimu, todėl ji nebuvo pakartotinai tiriama. Šis mikroorganizmas nepriklauso verocitotoksiną gaminančiai *E. coli* (VTEC) padermei. Nei viena VTEC padermė nebuvo klaidingai identifikuota naudojant šį rinkinį.

Be to, buvo ištyrta iš viso 65 užaugintos ant SMAC ir 52 užaugintos ant CT-SMAC sorbitolį fermentuojančios ne*E. coli* O157 padermės. Nei vienos iš jų *E. coli* O157 latekso tyrimo rezultatas nebuvo teigiamas. Nustatyta, kad viena sorbitolį fermentuojanti padermė (*Klebsiella oxytoca*) vykdo autoaglutinaciją su rinkiniu. Atlikus pakartotinį tyrimą nustatyta, kad ši sorbitoliui teigiama padermė yra neigiama.

14. LITERATŪRA

1. Borczyk A. Lior H. Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.
2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.
3. Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett, 7, 15-17.
4. Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.
5. Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983), Lancet i, 619-620.
6. Johnson, W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.
7. March S., and Ratnam (1986) J. Clin. Microbiol. 23. - 869-872.
8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbiol. 25, 1043-1047.
9. P.A. Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying Escherichia coli O157. 42:1109-1110.
10. Brenner et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No. 4 p. 703
11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of Escherichia coli O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679-684

15. SIMBOLIO LEGENDA

	Katalogo numeris
	<i>In vitro</i> diagnostikos medicinos prietaisas
	Žr. naudojimo instrukciją
	Temperatūros ribojimai (laikymo temperatūra)
	Pakankamas kiekis tyrimų skaičiui: <N>
	Partijos kodas (partijos numeris)
	Panaudoti iki (galiojimo data)
	Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje
	Gamintojas



IFU X4147D, peržiūra 2021 m. spalio mėn. Atspausdinta JK
 Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW, JK



Kod identyfikacyjny TSMX4147D
www.oxoid.com/ifu

Europa 00800 135 79 135

USA 1 855 2360 190

Kanada 1 855 805 8539

Inne +31 20 794 7071

Test lateksowy E. coli O157

REF DR0620M..... 100

1. PRZEZNACZENIE

Jakościowy szkiełkowy test aglutynacji lateksowej przeznaczony do potwierdzającej identyfikacji izolatów *E. coli* z serogrupy O157 wyhodowanych na agarze. Używany podczas procedur diagnostycznych ułatwia lekarzom podejmowanie decyzji dotyczących opcji leczenia pacjentów z podejrzeniem zakażeń bakteryjnych. Wyrób nie jest zautomatyzowany, jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego i nie jest przeznaczony do stosowania na potrzeby diagnostyki towarzyszącej.

2. PODSUMOWANIE I ZASADY TESTU

Test aglutynacji lateksowej przeznaczony do identyfikacji izolatów *E. coli* z serogrupy O157.

Niektóre szczepy *Escherichia coli* powiązane z występowaniem krwotocznego zapalenia okrężnicy (haemorrhagic colitis, HC) i zespołu hemolityczno-mocznicowego (haemolytic uremic syndrome, HUS).

Wykazano, że szczepy te wytwarzają werocytotoksynę (vero-cytotoxin, VT). Serotypem bakterii *E. coli* najczęściej izolowanym w przypadkach HC i HUS jest O157:H7. Izolacja tego serotypu z próbki stolca biegunkowego, szczególnie jeśli w próbce tej występuje krew, wskazuje na szczep wytwarzający werocytotoksynę^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}.

Test lateksowy *E. coli* O157 wykazuje obecność szczepów *E. coli* zawierających antygen serogrupy O157 metodą aglutynacji szkiełkowej. Testu najlepiej używać w połączeniu z agarem MacConkeya z sorbitolem (Oxoid CM0813). Szczepy *E. coli* O157:H7 nie fermentują sorbitolu, dlatego tworzą na tym podłożu bezbarwne kolonie. Większość izolatów *E. coli* fermentuje sorbitol i tworzy charakterystyczne różowe kolonie.

Do wstępnego badania przesiewowego należy użyć agaru MacConkeya z sorbitolem. Kolonie niefermentujące sorbitolu można następnie zbadać przy użyciu odczynników lateksowych, aby określić, czy badany izolant należy do serogrupy O157 i w związku z tym jest potencjalnym szczepem wytwarzającym VT.

3. ZAWARTOŚĆ ZESTAWU

DR0621M Testowy odczynnik lateksowy

Zawiera cząstki niebieskiego lateksu uwrażliwione swoistym przeciwciałem króliczym reagującym z antygenem somatycznym O157. Każdy zestaw zawiera ilość odczynnika wystarczającą na 100 testów.

DR0622M Kontrolny odczynnik lateksowy

Zawiera cząstki niebieskiego lateksu uwrażliwione globulinami króliczymi przed immunizacją. Każdy zestaw zawiera ilość odczynnika wystarczającą na 100 testów.

DR0623M Zawiesina do kontroli dodatniej

Zawiesina inaktywowanych komórek bakterii *E. coli* O157 w buforze. Ilość odczynnika wystarcza na 25 testów.

DR0624M Zawiesina do kontroli ujemnej

Zawiesina komórek bakterii *E. coli* O116 w buforze. Ilość odczynnika wystarcza na 25 testów.

DR0500G Karty reakcyjne

Zestaw zawiera 35 jednorazowych kart reakcyjnych.

Instrukcja używania (IFU).

4. WYMAGANE MATERIAŁY

Poniższe materiały są wymagane, ale nie są dostarczane razem z zestawem

Eza mikrobiologiczna i palnik Bunsena

Sól fizjologiczna w stężeniu 0,85%

Odpowiedni środek dezynfekujący, np. roztwór podchlorynu sodu w stężeniu >1,3% (w/w)

Stoper

5. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD Odczynniki są przeznaczone do stosowania wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

Wyłącznie do użytku profesjonalnego.

W przypadku uszkodzenia nie używać wyrobu.

Informacje na temat potencjalnie niebezpiecznych składników można znaleźć w karcie charakterystyki substancji niebezpiecznej (Material Safety Data Sheet, MSDS), dostępnej na stronie internetowej firmy, oraz na etykietach produktu.

Wszelkie poważne incydenty związane z wyrobem należy zgłaszać do producenta oraz właściwego organu państwa członkowskiego, w którym użytkownik i/lub pacjent ma siedzibę/miejsce zamieszkania.

Nie zamrażać.

Odczynników o różnych numerach serii nie można stosować wymiennie.

Odczynniki zawierają konserwant w postaci azydru sodu w stężeniu 0,1%.

Azydrek sodu może reagować z ołowianymi i miedzianymi instalacjami wodociągowymi, prowadząc do wytworzenia azydów metali o właściwościach wybuchowych, ulegających detonacji wskutek kontaktu. Aby nie dopuścić do nagromadzenia azydru w instalacji wodociągowej, po wylaniu odpadów należy je natychmiast splukać dużą ilością wody.

Materiały próbek mogą zawierać patogenne mikroorganizmy/wirusy, dlatego należy z nimi postępować z zastosowaniem odpowiednich środków ostrożności.

6. PRZECHOWYWANIE

Zestaw należy przechowywać w temperaturze 2–8°C. W takich warunkach odczynniki zachowują reaktywność do daty ważności wskazanej na opakowaniu zestawu.

7. PROCEDURY KONTROLI

Dostarczonych zawiesin kontrolnych należy używać każdego dnia przed wykonaniem rutynowych testów w celu sprawdzenia, czy odczynniki lateksowe działają prawidłowo.

W przypadku zawiesiny do kontroli dodatniej widoczna aglutynacja z testowym odczynnikiem lateksowym musi wystąpić w ciągu jednej minuty.

W przypadku zawiesiny do kontroli ujemnej w ciągu jednej minuty nie może dojść do aglutynacji z testowym odczynnikiem lateksowym ani z kontrolnym odczynnikiem lateksowym.

Nie używać testu, jeśli reakcje przy użyciu zawiesin kontrolnych są nieprawidłowe.

8. WAŻNE UWAGI DOTYCZĄCE PROCEDURY

Nie dopuścić do zanieczyszczenia odczynników wskutek dotknięcia końcówką wkraplacza próbki na karcie reakcyjnej.

Po każdym użyciu upewnić się, że zatyczki są dokładnie założone, aby uniknąć zanieczyszczenia i wyschnięcia odczynnika.

Po użyciu odstawić zestaw do chłodziarki i zadbać o to, aby butelki były przechowywane w pozycji pionowej.

9. MATERIAŁ HODOWLANY

Na potrzeby badania kolonie niefermentujące sorbitolu (NSF) można pobierać z agaru MacConkeya z sorbitolem (Oxoid CM0813) lub alternatywnie izolaty NSF można inokulować do podłoża nieselektywnego takiego jak agar ożywczy. Konieczne jest zbadanie do 10 oddzielnych kolonii NSF, aby zagwarantować wysokie prawdopodobieństwo wykrycia jakichkolwiek szczepów O157, które mogą występować się w hodowli mieszaney z innymi serotypami bakterii *E. coli* niefermentujących sorbitolu (NSF). Użycie kontrolnego odczynnika lateksowego zapewnia, że badany izolant nie jest szczepem, w przypadku którego dochodzi do autoaglutynacji.

10. METODA BADANIA

1. Przed użyciem odczekać, aż odczynniki osiągną temperaturę pokojową. Odpowiednio wymieszać zawiesiny lateksowe, energicznie nimi wstrząsając. W celu zapewnienia całkowitego wymieszania wypuścić zawiesinę lateksową, która może znajdować się w pipiecie wkraplacza.
2. Nanieść 1 kroplę testowego odczynnika lateksowego na kółko na karcie reakcyjnej. Umieścić ją blisko krawędzi kółka.
3. Za pomocą ezy lub pipety Pasteura nanieść kroplę soli fizjologicznej na kółko. Upewnić się, że na tym etapie nie dojdzie do wymieszania odczynnika lateksowego i soli fizjologicznej.
4. Za pomocą ezy pobrać porcję kolonii przeznaczoną do badania i ostrożnie zemulgować materiał w kropli soli fizjologicznej. Upewnić się, że uzyskano jednolitą zawiesinę.
5. Wymieszać testowy odczynnik lateksowy i zawiesinę, a następnie rozproszyc mieszaninę przy użyciu ezy, aby pokryć cały obszar reakcyjny. Opalić eżę.
6. Kołysać kartą, wykonując okrężne ruchy, i obserwować ją pod kątem aglutynacji. Nie kołysać kartą dłużej niż 1 minutę i nie używać szkła powiększającego.
7. W przypadku braku aglutynacji przejść do badania kolejnych kolonii NSF, jeśli są obecne.
8. W przypadku wystąpienia aglutynacji z testowym odczynnikiem lateksowym konieczne jest zbadanie kolejnej porcji kolonii przy użyciu kontrolnego odczynnika lateksowego w celu sprawdzenia, czy badany izolant nie jest izolatem autoaglutynującym.
9. Po zakończeniu badania wyrzucić kartę reakcyjną do środka dezynfekującego.

11. INTERPRETACJA WYNIKÓW TESTU

Aglutynacja z testowym odczynnikiem lateksowym, która zaszła w ciągu jednej minuty, oznacza wynik dodatni. Wskazuje to na obecność bakterii *E. coli* z serogrupy O157.

Brak aglutynacji w ciągu jednej minuty oznacza wynik ujemny. Wskazuje to na brak bakterii *E. coli* z serogrupy O157.

Wyniki nie mogą być zinterpretowane, jeśli do aglutynacji doszło zarówno z testowym odczynnikiem lateksowym, jak i kontrolnym odczynnikiem lateksowym.

Reakcje granulkowe lub kłaczkowate

Czasami mogą być obserwowane reakcje granulkowe lub kłaczkowate wynikające z obecności cząstek stałych w badanym materiale. Reakcje takie należy interpretować w oparciu o następujące kryteria:

Wynik jest dodatni, gdy przy użyciu odczynnika testowego obserwowane jest większe oczyszczenie niebieskiego tła w porównaniu z reakcją odczynnika kontrolnego. Wynik jest ujemny, gdy między odczynnikami testowym a odczynnikami kontrolnymi nie ma istotnych różnic w oczyszczeniu niebieskiego tła.

Niektóre szczepy *E. coli* są trudne do zemulgowania w soli fizjologicznej i mogą dawać reakcje typu kłaczkowatego zarówno z odczynnikami testowymi, jak i odczynnikami kontrolnymi. Reakcje te nie wyglądają jak rzeczywista aglutynacja i powinny zostać zignorowane. Jeżeli okaże się, że reakcja kłaczkowata jest zbyt silna, aby można było dokonać prawidłowej oceny, należy zawiesić kolonię w 0,3 ml soli fizjologicznej. Należy poczekać, aż grudki opadną na dno, i powtórzyć test, używając jednolitego supernatantu.

12. OGRANICZENIA DZIAŁANIA TESTU

W przypadku dodatniego wyniku uzyskanego dla kolonii nieznanego gatunku należy wykonać testy biochemiczne w celu potwierdzenia, że badany mikroorganizm jest szczepem *E. coli*.

Agar MacConkeya z sorbitolem oraz test lateksowy *E. coli* O157 nie zapewnią bezpośredniego potwierdzenia, że badany izolant jest szczepem wytwarzającym toksynę.

Odnotowywano inne serotypy wytwarzające werocytotoksynę.

Ponadto zidentyfikowano inne szczepy bakteryjne z epitopami naśladującymi lipopolisacharyd bakterii *E. coli* z serogrupy O157¹¹.

Z powodu wspólnego antygenu niektóre szczepy z gatunku *Escherichia hermannii* mogą reagować krzyżowo z surowicami przeciwko antygenowi serogrupy O157 bakterii *E. coli* i testem lateksowym (Borczyk et al.)¹. Bakterie *E. hermannii* można odróżnić od bakterii *E. coli*, ponieważ fermentują celobiozę, rosną w obecności cyjanku potasu (KCN) i wytwarzają żółty pigment, który może pojawić się z opóźnieniem¹⁰.

13. CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA

Podczas klinicznego porównania działania testu lateksowego *E. coli* O157 firmy Oxoid i komercyjnie dostępnych surowic odpornościowych uzyskane wyniki wskazywały na zgodność obu metod na poziomie 99,3% (151/152)⁹. Czulość testów firmy Oxoid wyniosła 100% (49/49), a swoistość — 99,0% (101/103). Próbkę, w przypadku której wystąpiły rozbieżności, poddano dalszym testom i uzyskano dla niej wynik dodatni względem serotypu O157 bakterii *E. coli*. Wynik ten zgadzał się z wynikiem testu firmy Oxoid.

Odczynniki firmy Oxoid nie wykazywały reaktywności krzyżowej z innymi szczepami *E. coli* lub mikroorganizmami niefermentującymi sorbitolu.

Test firmy Oxoid przeprowadzano bezpośrednio na materiale pobranym z różnych pożywek hodowlanych. Żadna z pożywek nie powodowała zakłóceń w teście lateksowym.

Działanie testu lateksowego *E. coli* O157 oceniono w centralnym laboratorium zdrowia publicznego (Central Public Health Laboratory, CPHL) na terenie Wielkiej Brytanii, w laboratorium patogenów jelitowych (1998) przy użyciu w pełni scharakteryzowanych szczepów mikroorganizmów docelowych i innych mikroorganizmów, niebędących mikroorganizmami docelowymi.

Wszystkie szczepy badano po pobraniu z hodowli pochodnej na agarze MacConkeya z sorbitolem (SMAC) oraz agarze MacConkeya z sorbitolem i dodatkiem cefiksymu i tellurytu (CT-SMAC). W przypadku agaru CT-SMAC zbadano mniejszą liczbę mikroorganizmów, ponieważ ze względu na jej selektywny charakter niektóre mikroorganizmy nie mogły być na niej hodowane.

Czułość obliczono na podstawie wyników testów znanych szczepów *E. coli* O157. Do obliczenia tego parametru użyto wyników testów zarówno szczepów niefermentujących sorbitolu, jak i szczepów fermentujących sorbitol. Swoistość obliczono na podstawie wyników testów znanych szczepów niefermentujących sorbitolu (NSF) innych niż szczepy *E. coli* O157 (tj. innych mikroorganizmów, w tym innych szczepów *E. coli*).

Tabela 1. Wyniki testów mikroorganizmów wyhodowanych na agarach SMAC i CT-SMAC.

		SMAC (n=120)		CT-SMAC (n=95)	
		Drobnoustrój			
		+ (tj. <i>E. coli</i> O157)	- (tj. inny niż <i>E. coli</i> O157)	+ (tj. <i>E. coli</i> O157)	- (tj. inny niż <i>E. coli</i> O157)
Test lateksowy <i>E. coli</i> O157	+	59	0	52	0
	-	1	60	0	43

Tabela 2. Statystyczna analiza danych.

	Czułość, %	Swoistość, %
SMAC		
Test lateksowy <i>E. coli</i> O157	98,3	100
CT-SMAC		
Test lateksowy <i>E. coli</i> O157	100	100

W przypadku agaru SMAC jedna hodowla, *E. coli* O157:H9, dała wynik fałszywie ujemny. Hodowla ta dała wynik ujemny również w teście przy użyciu konkurencyjnego zestawu i z tego względu nie została poddana kolejnym testom. Badany mikroorganizm nie był szczepem *E. coli* wytwarzającym werocytotoksynę (VTEC). Żaden szczep VTEC nie został błędnie zidentyfikowany przy użyciu zestawu.

Dodatkowo zbadano łącznie 65 fermentujących sorbitol szczepów niebędących szczepami *E. coli* O157 wyhodowanych na agarze SMAC i 52 szczepy wyhodowane na agarze CT-SMAC. Żaden ze szczepów nie dał dodatniego wyniku testu lateksowego *E. coli* O157. Odnotowano, że jeden ze szczepów fermentujących sorbitol (*Klebsiella oxytoca*) wykazywał autoaglutynację z zestawem. Po ponownym badaniu ten szczep fermentujący sorbitol dał wynik ujemny.

14. PIŚMIENNICTWO

1. Borczyk A. Lior H. Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.

2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.

3. Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett, 7, 15-17.

4. Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.

5. Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983), Lancet i, 619-620.

6. Johnson, W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.

7. March S., and Ratnam (1986) J. Clin. Microbiol. 23. - 869-872.

8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbiol. 25, 1043-1047.

9. P.A. Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying *Escherichia coli* O157. 42:1109-1110.

10. Brenner et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No. 4 p. 703

11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of *Escherichia coli* O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679-684

15. LEGENDA SYMBOLI

	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Zapoznać się z instrukcją użytkowania (IFU)
	Ograniczenia dotyczące temperatury (temperatura przechowywania)
	Zawartość wystarcza do wykonania <N> testów
	Kod partii (numer serii)
	Data przydatności (termin ważności)
	Upoważniony przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej
	Producent



IFU X4147D, wersja poprawiona z października 2021 r.

Wydrukowano w Wielkiej Brytanii

Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Wielka Brytania



Cod cheie TSMX4147D
www.oxid.com/ifu

Europa 00800 135 79 135

SUA 1 855 2360 190

CA 1 855 805 8539

ROW +31 20 794 7071

Test E. coli O157 Latex Test

REF DR0620M..... 100

1. DOMENIUL DE UTILIZARE

Un test de aglutinare latex calitativ pentru identificarea de confirmare a izolatelor serogrupului *E. coli* O157 dezvoltate pe agar. Se utilizează într-un flux de lucru de diagnosticare pentru a ajuta medicii la determinarea opțiunilor de tratament pentru pacienții suspecți de infecții bacteriene. Dispozitivul nu este automatizat, este destinat exclusiv utilizării profesionale și nu este un dispozitiv de diagnostic companion.

2. REZUMATUL ȘI PRINCIPIUL DE TESTARE

Un test de aglutinare latex pentru identificarea serogrupului *E. coli* O157.

Anumite tulpini de *Escherichia coli* au fost implicate în cazuri de colită hemoragică (CH) și sindrom ureamic hemolitic (SHU).

S-a demonstrat că aceste tulpini produc o verocitotoxină (VT). Serotipul *E. coli* cel mai frecvent izolat din cazurile HC și HUS este O157:H7. Izolarea acestui serotip dintr-un scaun diareic, în special cu prezența sângelui, indică o tulpină producătoare de verocitotoxină.^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}

Testul latex *E. coli* O157 va demonstra prin aglutinare pe lame tulpini de *E. coli* care posedă antigenul serogrupului O157. Testul este cel mai bine utilizat împreună cu Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM0813). Tulpinile de *E. coli* O157:H7 nu fermentează sorbitolul și, prin urmare, au ca rezultat colonii incolore pe acest mediu. Majoritatea izolatelor de *E. coli* fermentează sorbitolul și au ca rezultat colonii roz caracteristice.

Sorbitol MacConkey Agar trebuie utilizat pentru screening primar. Coloniile care fermentează fără sorbitol pot fi apoi testate cu reactivii latex, pentru a determina dacă izolatul aparține serogrupului O157 și, prin urmare, unei tulpini potențiale producătoare de VT.

3. COMPONENTELE KITULUI

DR0621M Latex de test

Constă în particule de latex albastre sensibilizate cu reactiv de anticorpi de iepure specifici, reactivi cu antigenul somatic O157. Fiecare kit conține suficient reactiv pentru 100 de teste.

DR0622M Latex de control

Consistă în particule de latex albastre sensibilizate cu globulină de iepure preimună. Fiecare kit conține suficient reactiv pentru 100 de teste.

DR0624M Suspensie de control negativ

O suspensie a celulelor *E. coli* O157 inactivate în soluție tampon. Suficient pentru 25 de teste.

DR0623M Suspensie de control pozitiv

O suspensie a celulelor *E. coli* O116 în soluție tampon. Suficient pentru 25 de teste.

DR0500G Carduri de reacție

Există 35 de carduri de reacție de unică folosință în kit.

Instrucțiuni de utilizare (IFU).

4. MATERIALE NECESARE

Următoarele materiale sunt necesare, dar nu au fost furnizate în acest kit

Ansă microbiologică și arzător Bunsen.

Soluție salină 0,85%.

Dezinfectant adecvat, de exemplu, soluție de hipoclorit de sodiu >1,3% w/w.

Cronometru

5. MĂSURI DE PRECAUȚIE

IVD Reactivii sunt destinați exclusiv utilizării pentru diagnostic *in vitro*.

Exclusiv pentru utilizare profesională.

În cazul unei defecțiuni, nu utilizați dispozitivul.

Consultați fișa tehnică de securitate a produsului (MSDS) disponibilă pe site-ul web al companiei și etichetele produsului pentru informații despre componentele potențial periculoase.

Orice incident grav care a avut loc în legătură cu dispozitivul va fi raportat producătorului și autorității competente din statul membru în care este stabilit utilizatorul și/sau pacientul.

A nu se congela.

Reactivii cu numere de lot diferite nu trebuie interschimbați.

Reactivii conțin 0,1% azidă de sodiu drept conservant.

Azida de sodiu poate reacționa cu instalațiile sanitare din plumb și cupru pentru a produce azide metalice care sunt explozive prin detonare de contact. Pentru a împiedica acumularea azidei în instalațiile sanitare, clătiți cu cantități semnificative de apă imediat după eliminarea deșeurilor.

Materialele de probă pot conține organisme patogene, manipulându-le cu măsuri de precauție corespunzătoare.

6. DEPOZITARE

Acest kit trebuie depozitat la 2–8 °C. În aceste condiții, reactivii își vor păstra reactivitatea până la data expirării indicată pe cutia kitului.

7. PROCEDURI DE CONTROL

Suspensiile de control furnizate trebuie utilizate pentru a verifica funcționarea corectă a reactivilor latex în fiecare zi înainte de efectuarea testelor de rutină.

Suspensia controlului pozitiv trebuie să cauzeze aglutinarea vizibilă cu reactivul latex de test în decurs de un minut.

Suspensia controlului negativ nu trebuie să cauzeze aglutinarea cu latexul de test sau de control în decurs de un minut.

Nu utilizați testul dacă reacțiile cu suspensiile de control sunt incorecte.

8. NOTE DE PROCEDURĂ IMPORTANTE

Nu lăsați reactivii să se contamineze lăsând vârful picurătorului să atingă proba de pe cardul de reacție.

După fiecare utilizare, capacele trebuie verificate în privința etanșeității acestora, pentru a preveni contaminarea și uscarea reactivului.

După utilizare, returnați kitul în frigider, asigurându-vă că flacoanele sunt depozitate în poziție verticală.

9. MATERIAL DE CULTURĂ

Coloniile care fermentează fără sorbitol (NSF) pot fi prelevate din Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM0813) sau, alternativ, izolatele NSF pot fi inoculate pe medii neselective, cum ar fi Nutrient Agar, pentru testare. Este necesar să testați până la 10 colonii NSF separate pentru a asigura o probabilitate mare de a detecta orice tulpină de O157 care poate fi într-o cultură mixtă cu NSF *E. coli* de alte serotipuri. Utilizarea latexului de control va asigura faptul că izolatul nu este o tulpină autoaglutinantă.

10. METODA DE TEST

- Lăsați toți reactivii să atingă temperatura camerei înainte de utilizare. Asigurați-vă că suspensiile de latex sunt amestecate, prin scuturare puternică. Eliminați latexul din picurătorul tip pipetă pentru amestecare completă.
- Distribuiți 1 picătură de latex de test pe un cerc de pe cardul de reacție. Plasați-l aproape de marginea cercului.
- Adăugați câteva anse sau o picătură de pipetă Pasteur de soluție salină în cerc. Asigurați-vă că latexul și soluția salină nu se amestecă la această etapă.
- Folosind o ansă, scoateți o porțiune din colonia de testat și emulsionați cu atenție în picătura de soluție salină. Asigurați-vă că suspensia rezultată este omogenă.
- Amestecați latexul de test și suspensia și distribuiți-le pentru a acoperi zona de reacție utilizând ansa. Ardeți ansa.
- Clătinați cardul într-o mișcare circulară, observând aglutinarea. Nu clătinați cardul pentru mai mult de 1 minut și nu utilizați o lupă.
- Dacă nu are loc aglutinarea, continuați să testați alte colonii NSF, dacă există.
- Dacă aer loc aglutinarea cu latexul de test, este necesară testarea unei alte porțiuni a coloniei cu reactivul latex de control, pentru a asigura faptul că izolatul nu este o tulpină autoaglutinantă.
- La final, eliminați cardul de reacție în dezinfectant.

11. INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTULUI

Aglutinarea latexului de test în decurs de un minut este un rezultat pozitiv. Acest lucru indică prezența serogrupului *E. coli* O157.

Dacă nu are loc aglutinarea în decurs de un minut, aceasta înseamnă că rezultatul este negativ. Acest lucru indică absența serogrupului *E. coli* O157.

Rezultatele nu pot fi interpretate dacă există aglutinare atât la nivelul latexului de test, cât și al celui de control.

Reacții granulare sau filamentoză

Ocazional, pot fi observate reacții granulare sau filamentoză, având în vedere natura sub formă de particule a materialului de testare. Atunci când sunt observate astfel de reacții, acestea trebuie interpretate utilizând următoarele criterii:

Rezultatul este pozitiv atunci când, folosind reactivul de testare, are loc o mai mare clarificare a fundalului albastru în comparație cu reacția reactivului de control. Rezultatul este negativ atunci când nu există diferențe semnificative în ceea ce privește clarificarea fundalului albastru folosind reactivii de testare și de control.

Unele tulpini de *E. coli* sunt dificil de emulsionat în soluție salină și pot da o reacție de tip filamentos atât cu reactivii de testare, cât și cu cei de control. Aceasta nu pare să fie aglutinare reală și trebuie ignorată. Dacă se constată că această filamentare este prea severă pentru a se efectua o judecată corectă, atunci colonia trebuie suspendată în 0,3 ml de soluție salină. Lăsați cocoloașele să se așeze și retestați acest supernatant omogen.

12. LIMITĂRILE TESTULUI

Dacă este obținut un rezultat pozitiv pe o colonie de specii necunoscute, trebuie efectuate teste biochimice pentru a confirma faptul că organismul este o tulpină *E. coli*.

Nici testul Sorbitol MacConkey Agar și nici testul latex *E. coli* O157 nu vor confirma în mod direct izolatul ca o tulpină producătoare de toxine.

Au fost identificate alte serotipuri care produc verocitotoxină.

În plus, au fost identificate alte tulpini bacteriene cu epitopi care îi imită pe cei ai lipopolizaharidei *E. coli* O157.¹¹

Unele tulpini de *Escherichia hermannii* pot reacționa încrucișat cu serurile de *E. coli* O157 și testul latex având în vedere un antigen comun (Borczyk et al)¹. *E. hermannii* se poate diferenția de *E. coli*, deoarece fermentează celobioza, cresc în prezența cianurii de potasiu (KCN) și produc un pigment galben, care poate fi întârziat¹⁰.

13. CARACTERISTICI DE PERFORMANȚĂ

În comparațiile clinice ale performanței testului latex Oxoid *E. coli* O157 și antiserurile comerciale, rezultatele au demonstrat un acord de 99,3% (151/152) între cele două metode⁹. Sensibilitatea testelor Oxoid a fost de 100% (49/49), iar specificitatea de 99,0% (101/103). Proba discrepantă a fost testată suplimentar și rezultatul a fost pozitiv pentru *E. coli* O157. Acest lucru a fost în acord cu rezultatul testului Oxoid.

Reactivii Oxoid nu au prezentat reactivitate încrucișată cu alte tulpini de *E. coli* sau cu organisme care nu fermentau sorbitol.

Testul Oxoid a fost efectuat direct dintr-o varietate de medii de cultură. S-a concluzionat faptul că niciunul dintre aceste medii nu cauzează interferența cu testul latex.

Performanța testului latex *E. coli* O157 a fost evaluată la Laboratorul central de sănătate publică (CPHL), Regatul Unit, în Laboratorul de patogeni enterici (1998), folosind tulpini complet caracterizate de organisme țintă și nețintă.

Toate tulpinile au fost testate după subcultură pe agar Sorbitol MacConkey (SMAC) și agar Sorbitol MacConkey care conține supliment Cefixime Telurit (CT-SMAC). Un număr mai mic de organisme au fost testate din CT-SMAC, deoarece, având în vedere natura sa selectivă, unele organisme nu au putut fi cultivate pe acest mediu,

Sensibilitatea a fost calculată pe baza rezultatelor testării tulpinilor *E. coli* O157 cunoscute. Au fost testate atât tulpini sorbitol negative, cât și tulpini sorbitol pozitive, fiind utilizate pentru acest calcul. Specificitatea a fost calculată pe baza rezultatelor testării cunoscute cu fermentare non-sorbitol (NSF), non-*E. coli* O157 (adică alte organisme, inclusiv alte tulpini de *E. coli*).

Tabelul 1. Rezultatele testării organismelor cultivate pe SMAC și CT-SMAC.

		SMAC (n=120)		CT-SMAC (n=95)	
		Organism (Microorganism)			
		+ (respectiv <i>E. coli</i> O157)	- (respectiv non- <i>E. coli</i> O157)	+ (respectiv <i>E. coli</i> O157)	- (respectiv non- <i>E. coli</i> O157)
Test <i>E. coli</i> O157 Latex Test	+	59	0	52	0
	-	1	60	0	43

Tabelul 2. Analiza statistică a datelor.

	% sensibilitate	% specificitate
SMAC		
Test <i>E. coli</i> O157 Latex Test	98,3	100
CT-SMAC		
Test <i>E. coli</i> O157 Latex Test	100	100

Pe o cultură de agar SMAC, o tulpină *E. coli* O157:H9 a avut un rezultat fals negativ. Această cultură a fost, de asemenea, negativă când a fost testată cu un kit competitor și, prin urmare, nu a fost retestată. Acest organism nu este o tulpină *E. coli* VTEC care produce verocitotoxină. Nu au existat tulpini VTEC identificate greșit de kit.

În plus, un total de 65 de sorbitol care fermentează, non-*E. coli* O157 au fost testate de la SMAC și 52 de la CT-SMAC. Niciuna dintre acestea nu a avut un rezultat pozitiv cu testul latex *E. coli* O157. S-a constatat că una dintre tulpinile de fermentare a sorbitolului (*Klebsiella oxytoca*) se autoaglutinează cu kitul. La repetarea testării, această tulpină sorbitol pozitivă a fost negativă.

14. REFERINȚE

1. Borczyk A. Lior H. Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.
2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.
3. Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett, 7, 15-17.
4. Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.
5. Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983), Lancet i, 619-620.
6. Johnson, W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.
7. March S., and Ratnam (1986) J. Clin. Microbiol. 23. - 869-872.
8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbiol. 25, 1043-1047.
9. P.A. Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying *Escherichia coli* O157. 42:1109-1110.
10. Brenner et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No. 4 p. 703
11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of *Escherichia coli* O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679-684

15. LEGENDA SIMBOLURILOR

REF	Număr de catalog
IVD	Dispozitiv medical pentru diagnosticare in vitro
	Consultați instrucțiunile de utilizare (IFU)
	Limite de temperatură (temp. de depozitare)
	Conținut suficient pentru <N> teste
LOT	Cod de lot (număr de lot)
	A se utiliza înainte de (data expirării)
EC REP	Reprezentant autorizat în Comunitatea Europeană
	Producător



IFU X4147D, Revizuit în octombrie 2021 Tipărit în Regatul Unit
 Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Regatul Unit



Kód kľúča TSMX4147D
www.oxid.com/ifu

Európa 00800 135 79 135 USA 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539 Zvyšok sveta +31 20 794 7071

Test E. coli O157 Latex

REF DR0620M..... 100

1. ZAMÝŠLANÉ POUŽITIE

Kvalitatívny latexový sklíčkový aglutinačný test na potvrdenie identifikácie izolátov O157 séro skupiny *E. coli* kultivovaných na agare. Používa sa v rámci diagnostického pracovného postupu ako pomôcka pre lekárov pri voľbe možnosti liečby pacientov s podozrením na bakteriálne infekcie. Táto pomôcka nie je automatizovaná a je určená len na profesionálne použitie a neslúži na sprievodnú diagnostiku.

2. ZHRNUTIE A PRINCÍP TESTU

Latexový aglutinačný test na identifikáciu séro skupiny *E. coli* O157.

Niektoré kmene *Escherichia coli* boli implikované v prípadoch hemoragickej kolitídy (HC) a hemolyticko-uremického syndrómu (HUS).

Bolo preukázané, že tieto kmene produkujú verocytotoxín (VT). Najčastejším sérotypom *E. coli* izolovaným z prípadov HC a HUS je O157:H7. Izolácia tohto sérotypu zo vzoriek stolice pri hnačke, najmä ak obsahuje krv, indikuje kmeň produkujúci verocytotoxín^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}.

Test *E. coli* O157 Latex bude prostredníctvom aglutinácie demonštrovať kmene *E. coli*, ktoré sú nositeľmi antigénu séro skupiny O157. Použitie tohto testu je najvhodnejšie v kombinácii so sorbitolovým MacConkeyho agarom (Oxoid CM0813). Kmene *E. coli* O157:H7 nespôsobujú kvasenie sorbitolu, preto sú výsledkom kultivácie na tomto médiu bezfarebné kolónie. Väčšina izolátov *E. coli* spôsobuje kvasenie sorbitolu a výsledkom kultivácie sú kolónie s charakteristickou ružovou farbou.

Sorbitolový MacConkeyho agar by sa mal používať ako primárny skrining. Kolónie bez kvasenia sorbitolu sa následne môžu testovať pomocou latexových reagencií na stanovenie toho, či izolát patrí do séro skupiny O157, a tým aj do skupiny kmeňov, ktoré potenciálne produkujú VT.

3. KOMPONENTY SÚPRAVY

Testovací latex DR0621M

Pozostáva z modrých latexových častíc so zvýšenou citlivosťou prostredníctvom špecifického králičieho antigénu reagujúceho so somatickým antigénom O157. Každá súprava obsahuje dostatočné množstvo reagencie na 100 testov.

Kontrolný latex DR0622M

Pozostáva z modrých latexových častíc so zvýšenou citlivosťou prostredníctvom králičieho globulínu pred imunitnou reakciou. Každá súprava obsahuje dostatočné množstvo reagencie na 100 testov.

Positívna kontrolná suspenzia DR0623M

Suspenzia inaktivovaných buniek *E. coli* O157 v tlmacom roztoku. Postačuje na 25 testov.

Negatívna kontrolná suspenzia DR0624M

Suspenzia buniek *E. coli* O116 v tlmacom roztoku. Postačuje na 25 testov.

Reakčné karty DR0500G

Súprava obsahuje 35 jednorazových reakčných kariet.

Návod na použitie.

4. POTREBNÝ MATERIÁL

Potrebný je nasledujúci materiál, ktorý sa však nedodáva spolu so súpravou

Mikrobiologická slučka a Bunsenov kahan.

0,85 % fyziologický roztok.

Vhodný dezinfekčný prostriedok, napríklad roztok chlórnanu sodného >1,3 % w/w.

Časovač

5. PREVENTÍVNE OPATRENIA

IVD Tieto reagencie sú určené len na diagnostické použitie *in vitro*.

Len na profesionálne použitie.

V prípade poruchy pomôcku nepoužívajte.

Informácie o potenciálne nebezpečných komponentoch nájdete v karte bezpečnostných údajov o materiáloch (KBÚM), ktorá je k dispozícii na webovej stránke spoločnosti, a na označeniach výrobku.

Akýkoľvek vážny incident, ktorý sa vyskytne v súvislosti s touto pomôckou, musí byť nahlásený výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom má používateľ a/alebo pacient sídlo.

Nezmrazujte.

Reagencie s rôznymi číslami šarží sa nesmú miešať.

Reagencie obsahujú 0,1 % azidu sodného ako konzervačnú látku.

Azid sodný môže reagovať s olovenými alebo meďnými armatúrami a vytvárať azidy kovov, ktoré sú výbušné a môžu spôsobiť kontaktnú explóziu. Na zabránenie hromadeniu azidov vypláchnite odtok kanalizácie množstvom vody hneď po likvidácii odpadu.

Materiály vzoriek môžu obsahovať patogénne organizmy. Pri manipulácii s nimi dodržiavajte príslušné bezpečnostné opatrenia.

6. SKLADOVANIE

Táto súprava sa musí skladovať pri teplote 2 až 8 °C. Pri týchto podmienkach si reagencie zachovávajú svoju reaktivitu až do dátumu expirácie uvedeného na škatuli súpravy.

7. POSTUPY KONTROLY

Na kontrolu správneho fungovania latexových reagencií by sa mali každý deň pred vykonávaním rutinných testov používať dodané kontrolné suspenzie.

Positívna kontrolná suspenzia musí spôsobiť viditeľnú aglutináciu s testovacou latexovou reageniou do jednej minúty.

Negatívna kontrolná suspenzia nesmie spôsobiť žiadnu aglutináciu s testovacím a kontrolným latexom do jednej minúty.

Test nepoužívajte, ak sú reakcie s kontrolnými suspenziami nesprávne.

8. DÔLEŽITÉ PROCEDURÁLNE POZNÁMKY

Nedotýkajte sa špičkou kvapkadla vzorky na reakčnej karte, aby ste zabránili kontaminácii reagencií.

Po každom použití sa uistite, že uzávery sú bezpečne nasadené, aby sa zabránilo kontaminácii a vysušaniu reagencie.

Po použití vráťte súpravu do chladničky a uistite sa, že fľaštičky sú uskladnené vo vzpriamenej polohe.

9. KULTIVAČNÝ MATERIÁL

Kolónie, ktoré nespôsobujú kvasenie sorbitolu (NSF), môžu byť odobraté zo sorbitolového MacConkeyho agaru (Oxoid CM0813) alebo sa na testovanie môžu izoláty NSF alternatívne naočkovať do neselektívneho média, ako je napríklad výživový agar. Je potrebné otestovať až 10 samostatných kolónií NSF na zaistenie vysokej pravdepodobnosti detekcie akýchkoľvek kmeňov O157, ktoré sa môžu nachádzať v zmiešaných kultúrach s NSF. *E. coli* iných sérotypov. Použitie kontrolného latexu zaisťuje, že izolát nepatrí medzi aglutinujúce kmene.

10. TESTOVACIA METÓDA

1. Pred použitím nechajte reagencie ustáliť pri izbovej teplote. Intenzívne pretraste na zaistite dôkladného premiešania latexových suspenzií. Na kompletne premiešanie vytlačte všetok latex z pipety kvapkadla.
2. Dávkujte 1 kvapku testovacieho latexu na krúžok na reakčnej karte. Kvapkajte blízko okraja krúžku.
3. Na krúžok naneste niekoľko plných slučiek fyziologického roztoku alebo kvapku fyziologického roztoku z pasteurovej pipety. V tejto fáze sa uistite, že latex a fyziologický roztok sa nezmiešajú.
4. Pomocou slučky odoberte časť kolónie na testovanie a dôkladne ju emulgujte v kvapke fyziologického roztoku. Uistite sa, že výsledná suspenzia je hladká.
5. Zmiešajte testovací latex a suspenziu a pomocou slučky rozotrite tak, aby bola pokrytá celá reakčná oblasť. Slučku zahrejte nad plameňom.
6. Krúživým pohybom preklápanie kartu, pričom sledujte aglutináciu. Kartu neprekĺpajte dlhšie ako 1 minútu a nepoužívajte lupu.
7. Ak nenastane žiadna aglutinácia, prejdite na testovanie ďalších kolónií NSF, ak je to relevantné.
8. Ak nastane aglutinácia s testovacím latexom, bude potrebné vykonať testovanie ďalšej časti kolónie pomocou kontrolnej latexovej reagencie s cieľom uistiť sa, že izolát nepatrí medzi automaticky aglutinujúce kmene.
9. Po skončení vyhodte reakčnú kartu do dezinfekčného prostriedku.

11. INTERPRETÁCIA VÝSLEDKOV TESTU

Agutínácia testovacieho latexu do jednej minúty predstavuje pozitívny výsledok. Znamená to prítomnosť séro skupiny *E. coli* O157.

Žiadna aglutinácia do jednej minúty predstavuje negatívny výsledok. Znamená to neprítomnosť séro skupiny *E. coli* O157.

Výsledky sa nedajú interpretovať, ak nastane aglutinácia testovacieho aj kontrolného latexu.

Zrnité alebo vláknité reakcie

Občas sa môžu pozorovať zrnité alebo vláknité reakcie v dôsledku časticovej povahy testovacieho materiálu. Ak sa vyskytnú takéto reakcie, mali by sa interpretovať podľa nasledujúcich kritérií:

Výsledok je pozitívny, ak použitím testovacej reagencie nastane väčšie vyčistenie modrého pozadia v porovnaní s reakciou kontrolnej reagencie. Výsledok je negatívny, ak nie sú žiadne významné zmeny medzi vyčistením modrého pozadia použitím testovacej a kontrolnej reagencie.

Niektoré kmene *E. coli* sa ťažko emulgujú vo fyziologickom roztoku a výsledkom môžu byť reakcie vláknitého typu pri testovacej aj kontrolnej reagencii. Nevyzerá to ako skutočná aglutinácia a tieto výsledky by sa mali ignorovať. Ak je takáto vláknitosť príliš výrazná na správne posúdenie, mala by sa kolónia suspendovať v 0,3 ml fyziologického roztoku. Nechajte, aby sa zhluky usadili, a zopakujte testovanie tohto hladkého supernatantu.

12. OBMEDZENIA TESTU

Ak sa dosiahne pozitívny výsledok pri kolónii neznámeho druhu, mali by sa vykonať biochemické testy s cieľom overiť, či je daný organizmus kmeň *E. coli*.

Test so sorbitolovým MacConkeyho agarom ani test *E. coli* O157 Latex priamo nepotvrdia, že izolát je kmeň produkujúci toxíny.

Zistili sa viaceré sérotypy, ktoré produkujú verocytotoxín.

Okrem toho boli identifikované aj iné baktérie s epitopmi, ktoré napodobňujú epitopy lipopolysacharidu *E. coli* O157.¹¹

Niektoré kmene *Escherichia hermannii* môžu krížovo reagovať so sérami *E. coli* O157 a latexovým testom z dôvodu spoločného antigénu (Borczyk a kol.¹²). Kmeň *E. hermannii* sa dá odlišiť od *E. coli*, pretože spôsobuje kvasenie celobiózy, rastie za prítomnosti kyanidu draselného (KCN) a produkuje žltý pigment, ktorý môže byť oneskorený¹⁰.

13. VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY

Pri klinických porovnaníach výkonnosti latexového testu Oxoid *E. coli* O157 a komerčného antiséra výsledky preukazovali 99,3 % (151/152) zhodu medzi týmito dvomi metódami⁹. Citlivosť testov Oxoid bola 100 % (49/49) a špecifickosť bola 99,0 % (101/103). Odlišná vzorka bola ďalej testovaná a zistila sa ako pozitívna na *E. coli* O157. Bolo to v súlade s výsledkom testu Oxoid.

Reagencie Oxoid nevykazovali krížovú reaktivitu s inými kmeňmi *E. coli* ani s organizmami, ktoré nespôsobujú kvasenie sorbitolu.

Test Oxoid sa vykonával priamo z rôznych kultivačných médií. Zistilo sa, že žiadne z týchto médií nespôsobuje interferencie s latexovým testom.

Výkonnosť testu *E. coli* O157 Latex bola hodnotená v laboratóriu Central Public Health Laboratory (CPHL) v Spojenom kráľovstve v laboratóriu enteropatogénov (1998) použitím plne charakterizovaných kmeňov cieľových a necieľových organizmov.

Všetky kmene boli testované po vedľajšej kultivácii na sorbitolovom MacConkeyho agare (SMAC) a sorbitolovom MacConkeyho agare obsahujúcom cefixím-teluritový doplnok (CT-SMAC). Z média CT-SMAC sa testoval nižší počet organizmov z dôvodu jeho selektívnej povahy – niektoré organizmy sa nedali kultivovať na tomto médiu.

Citlivosť bola vypočítaná z výsledkov testovania známych kmeňov *E. coli* O157. Boli testované a na tento výpočet použité sorbitol-negatívne aj sorbitol-pozitívne kmene. Špecifickosť bola vypočítaná z výsledkov testovania známych kmeňov, ktoré nespôsobujú kvasenie sorbitolu (NFS), iných ako *E. coli* O157 (t. j. iné organizmy vrátane iných kmeňov *E. coli*).

Tabuľka 1 Výsledky testovania organizmov kultivovaných na SMAC a CT-SMAC.

		SMAC (n = 120)		CT-SMAC (n = 95)	
		Organizmus			
		+ (t. j. <i>E. coli</i> O157)	- (t. j. iný ako <i>E. coli</i> O157)	+ (t. j. <i>E. coli</i> O157)	- (t. j. iný ako <i>E. coli</i> O157)
Test <i>E. coli</i> O157 Latex	+	59	0	52	0
	-	1	60	0	43

Tabuľka 2 Štatistická analýza údajov.

	Citlivosť v %	Špecifickosť v %
SMAC		
Test <i>E. coli</i> O157 Latex	98,3	100
CT-SMAC		
Test <i>E. coli</i> O157 Latex	100	100

Na agare SMAC jedna kultúra, *E. coli* O157:H9, poskytla falošne negatívny výsledok. Táto kultúra bola negatívna aj pri testovaní pomocou konkurenčnej súpravy a preto nebola opakovane testovaná. Tento organizmus nie je kmeň *E. coli* (VTEC) produkujúci verocytotoxín. Touto súpravou sa nesprávne neidentifikovali žiadne kmene VTEC.

Okrem toho sa testovalo 65 kmeňov, ktoré nespôsobujú kvasenie sorbitolu, iných ako *E. coli* O157 z média SMAC a 52 z média CT-SMAC. Žiadny z nich neposkytol pozitívny výsledok s latexovým testom *E.coli* O157. Zistilo sa, že jeden z kmeňov spôsobujúcich kvasenie sorbitolu (*Klebsiella oxytoca*) v súprave automaticky aglutinuje. Pri opakovanom testovaní bolo tento sorbitol-pozitívny kmeň zistený ako negatívny.

14. REFERENCIE

1. Borczyk A. Lior H. Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.

2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.

3. Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett,7, 15-17.

4. Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.

5. Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983),Lancet i,619-620.

6. Johnson,W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.

7. March S., and Ratnam (1986) J.Clin. Microbiol.23. - 869-872.

8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbial. 25, 1043-1047.

9. P.A.Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying Escherichia coli O157.42:1109-1110.

10. Brenner et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No.4 p.703

11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of Escherichia coli O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679-684

15. LEGENDA K SYMBOLOM

REF	Katalógové číslo
IVD	Diagnostická zdravotnícka pomôcka <i>in vitro</i>
	Pozrite si návod na použitie
	Teplotné obmedzenia (teplota skladovania)
	Obsah postačuje na <N> testov
LOT	Kód série (kód šarže)
	Dátum spotreby (dátum expirácie)
EC REP	Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve
	Výrobca



IFU X4147D, revidované v októbri 2021

Vytlačené v Spojenom kráľovstve

Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, Spojené kráľovstvo

E. coli O157 Latex Test

REF

DR0620M.....100 Tests

DA

1. ANVENDELSE

En kvalitativ, objektglasbaseret latexagglutinationstest til bekræftende identifikation af E. coli serogruppe O157-isolater, som er dyrket på agar. Anvendes i en diagnostisk arbejdsgang som en hjælp til klinikere ved fastlæggelse af behandlingsmuligheder for patienter, hvor der er mistanke om bakteriel infektion.

2. TESTENS PRINCIPPER

En latexagglutinationstest til identifikation af E. coli serogruppe O157.

Visse stammer af *Escherichia coli* har været impliceret i tilfælde af hæmoragisk colitis (HC) og hæmolytisk-uræmisk syndrom (HUS).

Det er blevet påvist, at disse stammer producerer en verocytotoksin (VT). Den *E. coli* serotype, som hyppigst rendyrkes fra HC- og HUS-tilfælde er O157:H7. Rendyrkningen af denne serotype fra diaréafførring, især ved tilstedeværelse af blod i denne, er indikativ for en verocytotoksin producerende stamme^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}.

Oxoid E. coli O157 latextesten vil påvise *E. coli* stammer, der besidder O157 serogruppe antigenet, ved præparatglas-agglutination. Det er bedst at bruge testen sammen med Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM0813). E. coli O157:H7 stammer forgærer ikke sorbitol og giver derfor farveløse kolonier på dette substrat. Flertallet af *E. coli* rendyrkninger forgærer sorbitol og giver karakteristiske lyserøde kolonier.

Sorbitol MacConkey Agar skal bruges som den primære screening. Ikke-sorbitol forgærende kolonier kan derefter testes med latexreagenserne for at bestemme, hvorvidt rendyrkningen tilhører O157 serogruppen og derfor er en potentielt VT-producerende stamme.

3. KITTETS KOMPONENTER	
DR621M Testlatex	Består af blå latexpartikler, der er sensibiliseret med specifikke kaninantistoffer, som reagerer med det O157 somatiske antigen. Hvert kit indeholder tilstrækkelig reagens til 100 test.
DR622M Kontrollatex	Består af blå latexpartikler, der er blevet sensibiliseret med præimmun kaninglobulin. Hvert kit indeholder tilstrækkelig reagens til 100 test.
DR623M Positiv kontrolopløsning	En opløsning af inaktiverede E. coli O157 celler i en buffer. Tilstrækkelig til 25 test.
DR624M Negativ kontrolopløsning	En opløsning af E. coli O116 celler i en buffer. Tilstrækkelig til 25 test.
DR500G Reaktionskort	Kittet indeholder 35 reaktionskort til engangsbrug.
Instruktionsvejledning	

4. PÅKRÆVNE MATERIALER
Påkrævne materialer, som ikke medleveres:
Mikrobiologisk øjepodenål og bunsenbrænder.
0,85% saltvand.
Passende desinfektionsmiddel som f.eks. natriumhypochloritopløsning >1,3% w/v
5. FORHOLDSREGLER
Dette produkt er kun beregnet til in vitro diagnostisk brug.
Må ikke nedfrys.
Reagenser med forskellige batchnumre må ikke bruges sammen.
Reagenserne indeholder 0,1% natriumazid som konserveringsmiddel.
Natriumazid kan reagere med bly- eller kobbervandrer og danne metalazider, som er eksplosive ved kontaktdetonation. For at forhindre en ophobning af azid i rørinstallationer, skal der efterskylles med masser af vand, efter det bortskaffes.
Da prøvematerialer kan indeholde patogene organismer, skal de håndteres i overensstemmelse med behørig forholdsregler.
Oplysninger om potentielt farlige komponenter fremgår af sikkerhedsdatabladet, der er tilgængeligt på Thermo Fishers website, og produktmærkningen.

Alle alvorlige hændelser, der måtte opstå med relation til brugen af udstyret, skal indrapporteres til producenten og til den kompetente myndighed i det medlemsland, hvor brugeren og/eller patienten opholder sig.

Brug ikke enheden i tilfælde af funktionsfejl.

ADVARSEL: Dette produkt indeholder natriumazid. Farlig ved indtagelse.

6. OPBEVARING
Kittet skal opbevares ved 2 - 8°C. Under disse forhold vil reagenserne bibeholde deres aktivitet indtil den udløbsdato, som er angivet på æsken.
7. KONTROLPROCEDURER
Kontrolopløsningerne skal bruges til at kontrollere, at latexreagenserne virker korrekt hver dag, før rutinemæssige tests udføres.
Den positive kontrolopløsning skal vise synlig agglutination med latexreagenset indenfor ét minut.
Den negative kontrolopløsning må ikke vise nogen agglutination inden ét minut.
Må ikke anvendes, hvis kontrolopløsningerne giver ukorrekte reaktioner.
8. VIGTIGE PROCEDUREBEMÆRKNINGER
Undgå at reagenser bliver kontamineret ved at drypspiden kommer i berøring med prøven på reaktionskortet.
Sørg for at hæfterne sættes rigtigt på efter brug, for at forhindre kontaminering og at reagenserne udtørres.
Efter brug skal kittet returneres til køleskab, og det skal sikres, at flasken opbevares i lodret tilstand.
9. PODNINGSMATERIALE
Ikke-sorbitol forgærende (NSF) kolonier kan udtages fra Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM0813) eller NSF rendyrkninger kan alternativt inokuleres på et non-selektivt substrat, som f.eks. Nutrient Agar (næringssubstrat) før de testes. Det er nødvendigt at teste op til 10 separate NSF-kolonier for at sikre en høj sandsynlighed for, at detektere eventuelle O157 stammer, som

kan være i en blandet kultur sammen med andre NSF *E. coli* serotyper. Brugen af kontrollatex vil sikre, at rendyrkningen ikke er en autoagglutinerende stamme.

10. TESTMETODE
1. Bring latexreagenserne op på stuetemperatur. Sørg for, at latexopløsningerne blandes ved ryste dem grundigt. Tøm eventuel latex fra pipetten for at sikre, at der blandes fuldstændigt.
2. Tilsæt 1 dråbe af testlatexen på en cirkel på reaktionskortet. Placer den tæt på kanten af cirklen.
3. Tilsæt et par øjepodenåle fulde saltvand eller en dråbe saltvand fra en Pasteurpipette til cirklen. Sørg for, at latex og saltvand ikke blandes på dette tidspunkt.
4. Brug en øjepodenål til at udtage en del af den koloni, som skal testes og opslåm den forsigtigt i saltvandsdråben. Kontrollér, at opløsningen bliver jævn.
5. Bland testlatexen og opløsningen sammen og udstryk dem med øjepodenålen, så de dækker reaktionsområdet. Flambér podenålen.
6. Rok kortet rundt og rundt og undersøg det for agglutination. Kortet må ikke røkkes i mere end 1 minut og der må ikke bruges forstørrelsesglas til aflæsning af resultatet.
7. Hvis der ikke opstår nogen agglutination, skal man fortsætte med at teste andre NSF kolonier, hvis sådanne findes.
8. Hvis der forekommer agglutination med testreagenset, vil det være nødvendigt at teste en yderligere portion af kolonien for at sikre, at rendyrkningen ikke er en autoagglutinerende stamme.
9. Når testen er fuldført, skal reaktionskortene bortskaffes i et desinfektionsmiddel.

11. FORTOLKNING AF TESTRESULTATER
Agglutination af testlatexen indenfor et minut er et positivt resultat. Dette indikerer tilstedeværelsen af <i>E. coli</i> serogruppe O157. Hvis der ikke opstår nogen agglutination indenfor et minut, er resultatet negativt. Dette indikerer at der ikke er <i>E. coli</i> serogruppe O157 til stede.
Resultater kan ikke fortolkes, hvis der forekommer agglutination med både test- og kontrollatexen.

Nogle *E. coli* stammer er svære at opslæmme i saltvand og de kan give en trådagtig type reaktion med både test- og kontrolreagenserne. Dette ligner ikke ægte agglutination og skal ignoreres. Hvis reaktionen er for trådagtig til, at der kan udføres en korrekt bedømmelse, skal en anden koloni opslæmmes i 0,3ml saltvand. Lad klumperne sætte sig og test igen med denne jævne supernatant.

12. PROCEDUREBEGRÆNSNINGER
Hvis et positivt resultat forekommer med en koloni af ukendt art, skal der udføres biokemiske analyser for at bekræfte, at organismen er en <i>E. coli</i> stamme.
Hverken Sorbitol MacConkey Agar eller E. coli O157 latextesten vil direkte bekræfte rendyrkningen som en toksin-producerende stamme.
Andre serotyper, som producerer verocytotoksin, er blevet fundet.
Nogle <i>Escherichia hermanii</i> stammer kan krydsreagere med E. coli O157 sera og latextesten på grund af et fælles antigen (Borczyk et al) ¹ . <i>E. hermanii</i> kan differentieres fra <i>E. coli</i> idet de fermenterer cellobiose, vokser ved tilstedeværelsen af KCN og producerer et

gult pigment, som kan være forsinket¹⁰.

13. PRÆSTATIONSDATA

I kliniske sammenligninger af Oxoid E. coli O157 latextestens og kommercielt antiseras præstation viste resultaterne en overensstemmelse på 99,3% (151/152) mellem de to metoder⁹. Oxoid testens følsomhed var 100% (49/49) og specificiteten var 99,0% (101/103). Den uoverensstemmende prøve blev testet yderligere og den testedes positiv for E. coli O157. Dette var i overensstemmelse med Oxoid testresultatet.

Oxoid reagenserne viste ingen krydsreaktioner med andre E. coli stammer og ikke-sorbitol forgærende organismer.Oxoid testen blev udført direkte fra et udvalg af dyrkningssubstrater.

Ingen af disse substrater havde nogen indvirkning på latextesten.

Ydeevnen af E. coli O157-latextesten blev evalueret på Central Public Health Laboratory (CPHL), Storbritannien, i Laboratory of Enteric Pathogens (1998), ved brug af fuldt karakteriserede stammer af mål- og ikke-målorganismer.

Alle stammer blev testet efter kontroludsåning på sorbitol-MacConkey-agar (SMAC) og sorbitol-MacConkey-agar, som indeholdt cefixim-tellurit-supplement (CT-SMAC). Et lavere antal organismer blev testet på CT-SMAC, da visse organismer på grund af deres selektive natur ikke kunne dyrkes på dette medium. Sensitiviteten blev beregnet ud fra resultaterne fra testning af kendte E. coli O157-stammer. Både sorbitol-negative og sorbitol-positive stammer blev testet og brugt til at beregne dette. Specificiteten blev beregnet ud fra resultaterne fra testning af kendte ikke-sorbitol-fermenterende (NSF), ikke-E. coli O157-stammer (dvs. andre organismer, herunder andre E. coli-stammer).

Tabel 1. Resultater fra testning af organismer dyrket på SMAC og CT-SMAC.

		SMAC (n=120)		CT-SMAC (n=95)	
		Organism			
		+ (i.e. E. coli O157)	- (i.e. non-E. coli O157)	+ (i.e. E. coli O157)	- (i.e. non-E. coli O157)
E. coli O157	+	59	0	52	0
Latex Test	-	1	60	0	43

Tabel 2. Statistisk analyse af data.

		Sensitivity %	Specificity %
SMAC			
E. coli O157 Latex Test		98.3	100
CT-SMAC			
E. coli O157 Latex Test		100	100

På SMAC-agar gav én kultur, en E. coli O157:H9, et falsk negativt resultat. Denne kultur var også negativ, da den blev testet med et konkurrerende kit, og blev derfor ikke testet igen. Denne organisme er ikke en verocytotoxin-producerende E. coli (VTEC)-stamme. Ingen VTEC-stammer blev fejld identificeret af kittet.

Derudover blev i alt 65 sorbitol-fermenterende, ikke-E. coli O157-stammer testet på SMAC og 52 på CT-SMAC. Ingen gav et positivt resultat med E. coli O157-latextesten. En af de sorbitol-fermenterende stammer (Klebsiella oxytoca) viste sig at autoagglutinere med kittet. Ved gentagen testning blev denne

sorbitol-positive stamme fundet at være negativ.

14. REFERENCES

1. Borczyk A, Lior H. Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.

2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.

3. Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett,7, 15-17.

4. Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.

5. Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983),Lancet i,619-620.

6. Johnson,W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.

7. March S., and Ratnam (1986) J.Clin. Microbiol.23. - 869-872.

8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbial. 25, 1043-1047.

9. P.A.Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying Escherichia coli O157.42:1109-1110.

10. Bremer et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No.4 p.703

15. SYMBOLFORKLARING

	Katalognummer
	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostisk brug
	Se brugervejledningen (Instructions for Use – IFU)
	Temperaturgrænser (opbevaringstemp.)
	Tilstrækkeligt indhold til <N> test
	Må ikke anvendes, hvis emballagen er beskadiget
	Må ikke genanvendes
	Batchkode (partinummer)
	Skal anvendes inden (udløbsdato)
	Importør
	Unik enhedsidentifikator
	Autoriseret repræsentant i EU
	Overensstemmelsesvurdering for Storbritannien
	Europæisk overensstemmelseserklæring
	Producent

Version	Dato for indførte ændringer
X4147D	April 2024 Opdateret for at opfylde IVDR-kravene



E. coli O157 Latex Test

REF

DR0620M.....100 Tests

DE

1. VERWENDUNGSZWECK

En kvalitativ, objektglasbaseret latexagglutinationstest til bekræftende identifikation af E. coli serogruppe O157-isolater, som er dyrket på agar. Anvendes i en diagnostisk arbejdsgang som en hjælp til klinikere ved fastlæggelse af behandlingsmuligheder for patienter, hvor der er mistanke om bakteriel infektion.

2. TESTPRINZIP

Latex-Agglutinationstest zum Nachweis von E. coli Serotyp O157

Verschiedene Stämme von *Escherichia coli* sind bei hämorrhagischer Kolitis (HC) und beim hämolytisch-uremischen Syndrom (HUS) beteiligt.

Es konnte gezeigt werden, dass diese Stämme ein Zytotoxin bilden, das auf Verozellen toxisch wirkt und daher als Verotoxin bezeichnet wird. Der bei hämorrhagischer Kolitis und hämolytisch-uremischem Syndrom am häufigsten isolierte Serotyp von E. coli ist O157:H7. Die Isolierung dieses Serotyps aus diarrhöischem Stuhl, besonders bei Anwesenheit von Blut, deutet auf einen Verotoxin-bildenden Stamm hin^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}.

Mit dem OXOID E. coli O157 Latex-Test kann durch Latex-Agglutination gezeigt werden, ob der betreffende *E. coli*-Stamm das Antigen der Serogruppe O157 besitzt. Er sollte am besten in Kombination mit dem Sorbit-MacConkey-Nährboden (OXOID, Art.-Nr. CM0813) eingesetzt werden. Bei ihm wurde Lactose durch Sorbit ersetzt. Da E. coli O157:H7- Stämme Sorbit nicht verwerten, wachsen sie als farblose Kolonien. Die Mehrzahl der *E. coli*-Isolate dagegen verwertet Sorbit; diese Kolonien sind charakteristisch rosarot gefärbt.

Mit dem Sorbit-MacConkey-Nährboden kann eine Vordifferenzierung durchgeführt werden. Mit dem OXOID *E. coli* Latex-Test können dann Sorbitnegative Kolonien darauf getestet werden, ob das Isolat zur Serogruppe O157 gehört und damit möglicherweise ein Verotoxin-bildender Stamm ist.

3. BESTANDTEILE DES TESTS	
DR 621M Latex-Testreagenz	Blaue Latex-Partikel, beschichtet mit spezifischen Kaninchen-Antikörpern gegen das somatische O157-Antigen; ausreichend für 100 Tests.
DR 622M Latex-Kontrollreagenz	Blaue Latex-Partikel, beschichtet mit Immunglobulin von nicht-immunisiertem Kaninchen; ausreichend für 100 Tests.

DR 623M Positive Kontrollsuspension	Inaktivierte E. coli O157-Zellen in Puffer; ausreichend für 25 Tests.
-------------------------------------	---

DR 624M Negative Kontrollsuspension	E. coli O116-Zellen in Puffer; ausreichend für 25 Tests.
-------------------------------------	--

DR 500G Einweg-Testkarten	35 Einweg-Testkarten mit je sechs Testfeldern. Werden weniger als sechs Tests durchgeführt, können die Karten vor Gebrauch entsprechend geschnitten werden.
---------------------------	---

4. GEBRAUCHSANWEISUNG
Zusätzlich benötigte Materialien:
Impföse und Bunsenbrenner Stopppuhr
Natriumchlorid-Lösung (0,85%, w/v)
Desinfektionslösung (z. B. Natriumhypochlorid-Lösung, >1,3%, w/w)
5. VORSICHTSMASSNAHMEN
<i>In vitro</i> Diagnosticum
Die Reagenzien verschiedener Chargen sollten nicht untereinander ausgetauscht werden.
Die Reagenzien enthalten zur Konservierung Natriumazid (0,1%). Da eine Natriumazidanreicherung in Blei- oder Kupferrohren zur Bildung explosiver Metallazide führen kann, sollten flüssige Abfälle sofort mit reichlich Wasser nachgespült werden.
Das Probenmaterial kann pathogene Organismen enthalten, es sollten die vorgeschriebenen Vorsichtsmaßnahmen eingehalten werden.
Hinweise auf potentiell gefährliche Substanzen entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt, das auf der Website von ThermoFisher verfügbar ist, und den Produktetiketten.
Alle schwerwiegenden Vorkommnisse, die im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, müssen dem Hersteller sowie der zuständigen Behörde des Mitgliedsstaates, in dem der Anwender und/oder Patient ansässig ist, gemeldet werden.
Im Falle einer Störung darf das Testkit nicht verwendet werden.
ACHTUNG: Product enthält Natriumazid. Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.

6. LAGERUNG
Reagenzien bei 2 - 8°C lagern. Nicht einfrieren. Unter diesen Bedingungen behalten die Reagenzien ihre Aktivität bis zum aufgedruckten Verfallsdatum.
7. KONTROLLEN
Mit den Kontrollsuspensionen sollte die Reaktivität des Latex-Reagenzes täglich vor der Routinetestung überprüft werden.
Mit der positiven Kontrollsuspension muss mit dem Latex-Reagenz innerhalb einer Minute eine sichtbare Agglutination erfolgen.
Mit der negativen Kontrollsuspension darf innerhalb einer Minute keine sichtbare Agglutination erfolgen.
Der Test darf bei fehlerhafter Reaktion mit den Kontrollsuspensionen nicht eingesetzt werden.

8. WICHTIGE ANWENDUNGSHINWEISE
Die Tropfpipetten der Reagenz- Fläschchen nicht mit der Probe oder den Kontrollsuspensionen in Berührung kommen lassen, um Kontaminationen der Latex-Reagenzien zu verhindern.
Fläschchen fest verschließen
<i>E. coli</i> Latex-Test nach Gebrauch im Kühlschrank aufbewahren, dabei sicherstellen, dass die Fläschchen aufrecht stehen.
9. KULTURMATERIAL
Sorbit-negative Kolonien können vom Sorbit-MacConkey-Nährboden (OXOID, Art.-Nr. CM0813) oder alternativ von einem

nichtselektiven Nährboden (z. B. Nähragar) entnommen werden. Es sollten bis zu zehn separate Sorbit-negative Kolonien getestet werden, um die Wahrscheinlichkeit des Nachweises von E. coli O157 aus einer Sorbit-negativen <i>E. coli</i> -Mischkultur zu erhöhen. Durch die Testung mit dem Kontroll-Reagenz wird ausgeschlossen, dass das Isolat ein autoagglutinierender Stamm ist.
10. TESTMETHODE
1. Latex-Reagenzien auf Raumtemperatur bringen. Die Tropfpipetten jeweils völlig in die Fläschchen entleeren und dann die Latex-Suspension kräftig schütteln.
2. Einen Tropfen Latex-Testreagenz am inneren Rand eines Testfeldes aufbringen.
3. Einige Impfösen isotonische Kochsalz- Lösung oder einen Tropfen aus einer Pasteur-Pipette auf das Testfeld geben. Aufgebrachtes Latex-Testreagenz und Kochsalz-Lösung bei diesem Schritt nicht miteinander vermischen!
4. Mit einer Impföse einen Teil der zu testenden Kolonie abnehmen und vorsichtig im Salzlösungs-Tropfen suspendieren; die entstehende Suspension sollte homogen sein.
5. Latex-Testreagenz und Salzlösung/Proben-Suspension mit der Impföse vermischen und über das gesamte Testfeld verteilen. Impföse abflammen.
6. Testkarte vorsichtig bis zu einer Minute kreisförmig bewegen und auf Agglutination überprüfen.
7. Erscheint keine Agglutination, den Test mit einer weiteren Sorbit-negativen Kolonie, falls vorhanden, fortsetzen.
8. Wenn mit dem Latex-Testreagenz eine Agglutination erscheint, sollte ein weiterer Teil dieser Kolonie mit dem Latex-Kontrollreagenz getestet werden, um auszuschließen, dass es sich um einen autoagglutinierenden Stamm handelt.
9. Benutzte Testkarten in ein Desinfektionsmittel eintauchen und entsorgen.
11. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE
Eine Agglutination des Latex- Testreagenzes innerhalb einer Minute kann als positives Ergebnis gewertet werden. Es zeigt die Anwesenheit eines <i>E. coli</i> -Stammes des Serotyps O157 an.
Erscheint innerhalb einer Minute keine Agglutination, ist dies als negatives Ergebnis zu werten; es zeigt die Abwesenheit von <i>E. coli</i> -Stämmen des Serotyps O157 an.
Die Ergebnisse sind nicht auswertbar, wenn sowohl mit dem Latex-Testreagenz als auch mit dem Latex-Kontrollreagenz eine Agglutination erscheint.
Einige <i>E. coli</i> -Stämme lassen sich nur schwer in isotonischer Kochsalz-Lösung emulgieren und zeigen sowohl mit dem Latex-Testreagenz als auch mit dem Latex-Kontrollreagenz eine faserige Reaktion. Diese unterscheidet sich von der eigentlichen Agglutination und kann ignoriert werden. Wenn diese faserigen Reaktionen für eine korrekte Beurteilung zu stark sind, kann die Kolonie in 0,3 ml isotonischer Kochsalz-Lösung suspendiert werden. Feste Bestandteile absetzen lassen und den homogenen Überstand erneut testen.
12. TESTBESCHRÄNKUNGEN
Wenn mit einer Kolonie einer unbekannten Spezies ein positives Ergebnis erhalten wird, sollte mit biochemischen Tests bestimmt werden, ob es sich um einen E. coli-Stamm handelt.
Weder mit Sorbit-MacConkey-Nährboden noch mit dem E. coli O157 Latex-Test kann direkt bestätigt werden, dass das Isolat ein

Toxin-bildender Stamm ist.¹¹

Einige *Escherichia hermanii*-Stämme können mit *E. coli* O157-Seren und dem Latex-Test auf Grund eines gemeinsamen Antigens (Borczyk et al.)¹ eine Kreuzreaktion zeigen. *E. hermanii* kann durch folgende Reaktionen von *E. coli* differenziert werden: *E. hermanii* verwertet Cellobiose, wächst in Anwesenheit von KCN und die Kolonien weisen (z. T. verspätet) eine gelbe Pigmentierung auf¹⁰.

13. LEISTUNGSSCHARAKTERISTIKA
In klinischen Studien wurde die Leistungsfähigkeit des OXOID E. coli O157 Latex-Tests mit kommerziell erhältlichen Antiseren verglichen. Die Ergebnisse zeigen eine Übereinstimmung der beiden Methoden von 99,3% (151/152) ⁹ . Die Sensitivität des OXOID Tests betrug 100% (49/49); die Spezifität 99,0% (101/103). Die nicht übereinstimmende Probe wurde nachgetestet und war für E. coli O157 positiv; dies entsprach dem Ergebnis im OXOID <i>E. coli</i> O157 Latex-Test.
Die OXOID Reagenzien zeigten keine Kreuzreaktion mit anderen <i>E. coli</i> - Stämmen oder Sorbit-negativen Organismen. Der OXOID E. coli O157 Latex-Test ist für den direkten Einsatz für Kolonien von verschiedenen Kultur Nährböden ausgelegt; die Bestandteile der Nährböden beeinflussen das Testergebnis nicht.
Ydeevnen af E. coli O157-latextesten blev evalueret på Central Public Health Laboratory (CPHL), Storbritannien, i Laboratory of Enteric Pathogens (1998), ved brug af fuldt karakteriserede stammer af mål- og ikke-målorganismer.

Alle stammer blev testet efter kontroludsåning på sorbitol-MacConkey-agar (SMAC) og sorbitol-MacConkey-agar, som indeholder cefixim-tellurit-supplement (CT-SMAC). Et lavere antal organismer blev testet på CT-SMAC, da visse organismer på grund af deres selektive natur ikke kunne dyrkes på dette medium. Sensitiviteten blev beregnet ud fra resultaterne fra testning af kendte E. coli O157-stammer. Både sorbitol-negative og sorbitol-positive stammer blev testet og brugt til at beregne dette. Specificiteten blev beregnet ud fra resultaterne fra testning af kendte ikke-sorbitol-fermenterende (NSF), ikke-E. coli O157-stammer (dvs. andre organismer, herunder andre E. coli-stammer).

Tabel 1. Resultater fra testning af organismer dyrket på SMAC og CT-SMAC.					
		SMAC (n=120)		CT-SMAC (n=95)	
		Organism			
		+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)	+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	+	59	0	52	0
	-	1	60	0	43

Tabel 2. Statistiske Analyse der Daten		
		Sensitiviteten %
		Specificiteten %
SMAC		
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	98.3	100
CT-SMAC		
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	100	100

På SMAC-agar gav én kultur, en E. coli O157:H9, et falsk negativt resultat. Denne kultur var også negativ, da den blev testet med

et konkurrerende kit, og blev derfor ikke testet igen. Denne organisme er ikke en verocytotoxin-producerende E. coli (VTEC)-stamme. Ingen VTEC-stammer blev fejldentifieret af kittet.

Derudover blev i alt 65 sorbitol-fermenterende, ikke-E. coli O157-stammer testet på SMAC og 52 på CT-SMAC. Ingen gav et positivt resultat med E. coli O157-latextesten. En af de sorbitol-fermenterende stammer (Klebsiella oxytoca) viste sig at autoagglutinere med kittet. Ved gentagen testning blev denne sorbitol-positive stamme fundet at være negativ.

14. REFERENCES

1. Borczyk A, Lior H, Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.
2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.
3. Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett,7, 15-17.
4. Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.
5. Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983),Lancet i,619-620.
6. Johnson,W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.
7. March S., and Ratnam (1986) J.Clin. Microbiol.23. - 869-872.
8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbial. 25, 1043-1047.
9. P.A.Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying Escherichia coli O157.42:1109-1110.
10. Bremer et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No.4 p.703
11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of Escherichia coli O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679–684

15. LEGENDE

	Bestellnummer
	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Temperatureinschränkung (Lagertemp.)
	Inhalt ausreichend für <N> Tests
	Chargenbezeichnung (Chargennummer)
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
	Importeur
	Einmalige Produktkennung
	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Britische Konformitätsbewertung
	Europäische Konformitätsbewertung
	Hersteller





Oxoid Limited, Wade Road, Hampshire
Basingstoke, RG24 8PW, UK

Bei technischen Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren zuständigen Vertriebspartner. www.thermofisher.com

Version	Datum eingeführter Änderungen
X4147D	April 2024 Aktualisiert zwecks Erfüllung der IVDR-Anforderungen

E. coli O157 Latex Test

REF

DR0620M.....100 Tests

ES

1. USO PREVISTO

Prueba cualitativa de aglutinación en portaobjetos de látex para la identificación confirmatoria de cepas aisladas de E. coli del serogrupo O157 cultivadas en agar. Se utiliza en un flujo de trabajo de diagnóstico para ayudar a los médicos en las opciones de tratamiento para pacientes con sospecha de infecciones bacterianas.

2. PRINCIPIO

Prueba de aglutinación de Látex para identificación de E coli serogrupo O157.

Ciertas razas de *Escherichia coli* se han implicado recientemente en algunos casos de colitis hemorrágica (HC) y síndrome urémico hemolítico (HUS).

Se ha demostrado que estas razas producen una verocitotoxina (VT). El serotipo de *E coli* más frecuentemente aislado en casos de HC y HUS es el O157:H7. El aislamiento de este serotipo de heces diarreicas especialmente con sangre es indicativo de raza productora de verocitotoxina^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}.

La prueba de Látex O157:H7 de Oxoid demuestra por aglutinación en portaobjetos razas *E. coli* que poseen el antígeno de serogrupo O157. Es muy conveniente la utilización de Sorbitol Mac Conkey Agar (Oxoid CM0813) en conjunción con esta prueba. E. coli O157:H7 no fermenta el sorbitol y por tanto dará colonias incoloras en este medio. La mayoría de los aislamientos de *E. coli* fermentan el sorbitol y darán por tanto las características colonias rosas.

El Agar Sorbitol Mac Conkey debe utilizarse como medio de cribaje primario. Las colonias que no fermentan el sorbitol pueden por tanto ser ensayadas con el reactivo de Látex, para determinar si el aislamiento pertenece al serogrupo O157 y ser potencialmente productoras de VT.

3. COMPONENTES DEL EQUIPO

DR 621M Látex Test	Partículas azules de Látex sensibilizadas con Anticuerpos específicos de conejo reactivos frente al antígeno somático O157. Cada equipo contiene reactivo suficiente para 100 pruebas.
DR 622M Látex Control	Partículas azules de Látex sensibilizadas con globulinas de conejo preinmunes. Cada equipo contiene reactivo suficiente para 100 pruebas.
DR 623M Suspensión de Control Positivo	Suspensión de células de E. coli O157 en buffer inactivadas. Suficiente para 25 pruebas.
DR 624M Suspensión de Control Negativo	Suspensión de células de E. coli O116 en buffer. Suficiente para 25 pruebas.
DR 500G Tarjetas de Reacción	Cada equipo: contiene 35 tarjetas de reacción desechables.

Folleto de instrucciones. (IFU)

4. MATERIAL REQUERIDO

El siguiente material se requiere pero no se suministra con este equipo:

asa microbiológica. mechero bunsen.

Solución salina 0.85%.

Desinfectante apropiado ejem. Hipoclorito sódico>1.3% p/p.

5. PRECAUCIONES

Este producto es exclusivamente para diagnostico “in vitro”.

No congelar.

No deben intercambiarse reactivos con distinto número de lote.

No los use si hay indicios de contaminación u otros signos de deterioro.

Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el dispositivo deberá notificarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que se encuentre el usuario y/o el paciente.

Consulte la Hoja de datos de seguridad (SDS) en el sitio web de la empresa para obtener información detallada sobre los reactivos químicos.

En caso de mal funcionamiento, no utilice el dispositivo.

En caso de avería, no utilice el dispositivo.Los reactivos contienen 0.1 % de azida sódica como conservador. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o cobre de las tuberías produciendo azidas metálicas que son explosivas por detonación de contacto. Para prevenir la acumulación de azidas en las tuberías, dejar correr abundante agua inmediatamente después de haberse desecho del material.

Las muestras pueden contener organismos patógenos. Manipular con las debidas precauciones.

6. CONSERVACIÓN

El equipo debe ser conservado entre 2- 8°C. Bajo estas condiciones los reactivos permanecerán útiles hasta la fecha de caducidad que figura en la caja del equipo.

7. PROCEDIMIENTO DE CONTROL

Las suspensiones control que se suministran deben utilizarse para comprobar el correcto funcionamiento de los reactivos de látex cada día. antes de ensayar los problemas.

La suspensión de control positivo debe producir aglutinación visible con el reactivo de látex en un minuto.

La suspensión de control negativo no debe producir aglutinación en un minuto.

No utilizar la prueba si las reacciones con las suspensiones control son incorrectas.

8. NOTAS IMPORTANTES AL PROCEDIMIENTO

No dejar que los reactivos de látex se contaminen por permitir que la punta del goteador toque la muestra sobre la tarjeta de reacción.

Asegurarse que las tapas están firmemente ajustadas y cerradas tras su uso para prevenir la contaminación y desecación de los reactivos.

Tras su utilización devolver el equipo a la nevera asegurándose que las botellas quedan en su perfecta posición hacia arriba.

9. MATERIAL DE CULTIVO

Las colonias que no fermentan el sorbitol(NSF) pueden obtenerse a partir de sorbitol Mac Conkey Agar (Oxoid CM0813) o alternatively pueden inocularse sobre un medio no selectivo tal como un agar nutritivo. Es necesario probar unas 10 colonias NSF separadas para asegurar una alta probabilidad de detección de razas O157 que puedan estar en en cultivo mixto con *E. coli* NSF de otros serotipos. La utilización del control de Látex asegurará, que el aislamiento no es una raza autoaglutinable.

10. MÉTODO DE TRABAJO

- Permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente. Asegurar la perfecta mezcla de la suspensión de Látex por agitación vigorosa. Retirar cualquier resto de Látex que haya quedado en la pipeta del goteador.
- Dispensar una gota del Látex Test sobre uno de los círculos de la tarjeta de reacción. Colocarla en uno de los extremos del círculo.
- Añadir con asa o con pipeta pasteur una gota de solución salina al círculo. Asegurarse que el Látex y la solución salina no se mezclan en este estadio.
- Por medio de un asa recoger una porción de la colonia a estudiar y cuidadosamente emulsionarla en la gota de sección salina. Asegurar que la suspensión resultante es uniforme.
- Mezclar el Látex Test junto con la suspensión y extender hasta cubrir la mayor parte del área de reacción, utilizando para ello un asa. Flamear el asa.
- Rotar el porta con movimiento circular buscando la aglutinación. No rotar la tarjeta más de un minuto y no utilizar lupa para observar la aglutinación.
- Si no se da la aglutinación proceder a probar otra colonia NSF si están presentes.
- Si se da la aglutinación con el reactivo Test es necesario probar otra porción de la misma colonia con el reactivo control para asegurar que el aislamiento no es una raza autoaglutinable.
- Cuando se haya finalizado desechar las tarjetas de reacción en desinfectante.

11. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se obtiene un resultado positivo si el Látex aglutina en un tiempo máximo de 1 minuto. Esto indicará a presencia de *E. coli* serogrupo O157.

La aglutinación que no aparezca en un minuto debe interpretarse como resultado negativo, indica ausencia de *E. coli* serogrupo O157.

Los resultados no deben interpretarse si ha habido aglutinación del Látex Test y Látex control.

Algunas razas de *E. coli* son difíciles de emulsionar en solución salina y pueden dar una reacción de tipo fibroso con ambos reactivos Test y Control.

Esto no es verdaderamente una aglutinación y debe ser ignorada. Si esta fibrosidad es demasiado acusada como para confundir la interpretación del resultado, la colonia debe ser entonces suspendida en 0,3 mi, de solución salina, permitir que el poso sedimente y retestar el sobrenadante.

12. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Si se da un resultado positivo en una colonia de especie desconocida se deben realizar pruebas bioquímicas para confirmar que el organismo es una raza de *E. coli*.

Ni el sorbitol Mac Conkey Agar ni el Látex Test E. coli O157 confirmarán directamente el aislamiento como raza productora de toxina.

Se han encontrado otros serotipos productores de Verocitotoxina.

Algunas razas de *Escherichia hermanii* pueden dar reacción cruzada con suero E. coli O157 y con Látex test debido a un antígeno compartido (Borczyk) et al^a *E. hermanii* puede diferenciarse de *E coli* ya que fermentan la celobiosa, crecen en presencia de KCN y producen un pigmento amarillo que puede ser tardío¹⁰.

13. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

La comparación del Látex Test de Oxoid E. coli O157 y otros antisueros comercialmente disponibles ha demostrado una correlación del 99.3% (151/152) entre ambos métodos⁹. La sensibilidad de la prueba de Oxoid fue de 100% (49/49) y la especificidad del 99% (101/103). Las muestras discrepantes fueron posteriormente ensayadas y encontradas positivas para *E. Coli* O157. Lo cual está en concordancia con los resultados de la prueba Oxoid.

Los reactivos de Oxoid no demostraron reacción cruzada con otras razas de *E. coli* u otros microorganismos no fermentadores del sorbitol. El test de Oxoid fue realizado directamente de una gran variedad de medios de cultivo. Ninguno de estos medios causó interferencia con el Látex Test.

El rendimiento de la prueba en látex de E. coli O157 se evaluó en el Central Public Health Laboratory (CPHL), Reino Unido, en Laboratory of Enteric Pathogens (1998), con cepas completamente caracterizadas de microorganismos diana y no diana. Todas las cepas se analizaron después del subcultivo en agar MacConkey con sorbitol (SMAC) y agar MacConkey con sorbitol con suplemento de cefixima-telurito (CT-SMAC). Se analizó un número menor de microorganismos de CT-SMAC, ya que debido a su naturaleza selectiva, algunos organismos no se pudieron cultivar en este medio. La sensibilidad se calculó a partir de los resultados de las pruebas de cepas conocidas de E. coli O157. Tanto las cepas positivas para sorbitol como las negativas se analizaron y utilizaron para hacer este cálculo. La especificidad se calculó a partir de los resultados de las pruebas conocidas de microorganismos no fermentadores de sorbitol (NSF), no E. coli O157 (es decir, otros organismos, incluidas otras cepas de E. coli).

Tabla 1. Resultados de las pruebas de organismos cultivados en SMAC y CT-SMAC.

		SMAC (n=120)		CT-SMAC (n=95)	
		Organism			
		+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)	+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)
Prueba en látex de <i>E. coli</i> O157	+	59	0	52	0
	-	1	60	0	43

Tabla 2. Análisis estadístico de datos.

	Sensitivity %	Specificity %
SMAC		
Prueba en látex de E. coli O157	98.3	100
CT-SMAC		
Prueba en látex de E. coli O157	100	100

En el agar SMAC, un cultivo de E. coli O157:H9 dio un resultado falso negativo. Este cultivo también dio negativo cuando se analizó con un kit de la competencia y, por lo tanto, no se volvió a analizar. Este organismo no es una cepa de E. coli (VTEC) productora de verocitotoxina. El kit no identificó erróneamente ninguna cepa de VTEC.

Además, se analizaron 65 cepas no E. coli O157 fermentadoras de sorbitol procedentes de SMAC y 52 de CT-SMAC. Ninguna dio resultado positivo en la prueba del látex para E. coli O157. Una de las cepas fermentadoras de sorbitol (Klebsiella oxytoca) se aglutinó automáticamente con el kit. Al repetir la prueba, esta cepa positiva para sorbitol dio resultado negativo.

14. REFERENCES

- Borczyk A, Lior H, Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.
- Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.
- Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett,7, 15-17.
- Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.
- Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983),Lancet i,619-620.
- Johnson,W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.
- March S., and Ratnam (1986) J.Clin. Microbiol.23. - 869-872.
- Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbial. 25, 1043-1047.
- P.A.Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying Escherichia coli O157.42:1109-1110.
- Bremer et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No.4 p.703

15. DEFINICIÓN DE LOS SÍMBOLOS

	Número de catálogo
	Producto sanitario de diagnóstico in vitro
	Consultar las instrucciones de uso (IFU)
	Limitaciones de temperatura (temperatura de conservación)
	Contenido suficiente para <N> pruebas
	Código de lote (número de lote)
	Usar antes de (fecha de caducidad)
	Importador
	Identificador único del producto
	Representante autorizado en la Comunidad Europea

	Evaluación del cumplimiento normativo de Reino Unido
	Evaluación de conformidad europea
	Fabricante





Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW, UK

Para obtener asistencia técnica, por favor póngase en contacto con su distribuidor local.

Versión	Fecha de la introducción de modificaciones
X4147D	Abril 2024 Se ha actualizado para cumplir los requisitos del IVDR

E. coli O157 Latex Test

REF

DR0620M.....100 Tests

FR

1.UTILISATION PRÉVUE

Test qualitatif d’agglutination au latex pour l’identification confirmative de l’E. coli de sérogroupe O157 à partir d’isolats cultivés sur gélose. Ce test est utilisé dans le cadre d’un processus diagnostique afin d’aider les cliniciens dans le choix d’options thérapeutiques pour les patients susceptibles de présenter des infections bactériennes.

2.PRINCIPE DU TEST

Test d’agglutination au latex pour l’identification d’E. coli O157. Certaines souches d’*Escherichia coli* ont été impliquées dans des cas de colit hémorragique et de syndrome urémique hémolytique. Ces souches produisent des véro-cytotoxines. Le sérotype d’*E. coli*, reconnu comme le plus fréquemment responsable de cette pathologie est le, sérotype O157:H7. L’isolement de ce sérotype à partir d’une selle diarrhéique et hémorragique est le signe d’une souche produisant une vérocytotoxine^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}. Le test Oxoid met en évidence par agglutination de particules de latex sur lame les souches d’*E. coli* possédant l’antigène O157. Il est préférable d’utiliser parallèlement à ce test la gélose Mac Conkey au sorbitol (Oxoid CM0813). Les souches d’E. coli O157:H7 ne fermentent pas le sorbitol et donnent donc des colonies incolores sur ce milieu, contrairement à la majorité des autres souches d’*E. coli* qui fermentent le sorbitol et donnent des colonies roses caractéristiques. La gélose Mac Conkey au sorbitol permet une première orientation. Les colonies qui ne fermentent pas le sorbitol peuvent alors être testées avec le réactif au latex pour confirmer leur appartenance au sérogroupe O157 et donc leur aptitude à produire une véro-cytotoxine.

3.RÉACTIFS

DR 621M latex test

Particules de latex bleues sensibilisées par des anticorps de lapin dirigés contre l’antigène somatique O157. 100 tests.

DR 622M latex de contrôle

Particules de latex bleues sensibilisées par des immunoglobulines de lapin non spécifiques. 100 tests.

DR 623M contrôle positif

Suspension d’E. coli O157 inactivé. 25 tests

DR 624M contrôle négatif

Suspension d’E. coli O116 inactivé. 25 tests

DR 500G cartes tests

35 cartes jetables

4.MATÉRIEL NÉCESSAIRE, NON FOURNI

oe.

solution saline à 0,85%.

solution désinfectante - solution d’hypochlorite de sodium > 1,3% p/p.

5.PRÉCAUTIONS

Exclusivement pour usage in vitro. Ne pas congeler. Ne pas mélanger les réactifs appartenant à des lots différents. réactifs contiennent de l’azide de sodium à 0,1%. Celui-ci peut réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre et donner des composés potentiellement explosifs. Pour éviter l’accumulation dans les canalisations, rincer abondamment, immédiatement après élimination du réactif. Se reporter à la fiche de données de sécurité, disponible sur le site Web ThermoFisher, et à l’étiquetage du produit pour prendre connaissance des informations relatives aux composants potentiellement dangereux. Il convient de signaler tout incident grave survenu en lien avec le dispositif au fabricant et à l’autorité compétente de l’État membre dans lequel l’utilisateur et/ou le patient sont établis. En cas de dysfonctionnement, n’utilisez pas le dispositif. ATTENTION: Ce produit contient d’azoture de sodium. Nocif en cas d’ingestion.

6.CONSERVATION

Les réactifs doivent, être conservés à 2-8°C jusqu’à la date de péremption indiquée sur le coffret.

7.CONTRÔLES

Les suspensions de contrôle doivent être utilisées une fois par jour, avant d’effectuer les tests, pour vérifier le bon fonctionnement des réactifs au latex. Le contrôle positif doit donner une agglutination bien visible avec le latex test en moins d’une minute. Le contrôle négatif ne doit pas présenter d’agglutination en une minute. Si le contrôle est incorrect, ne pas utiliser le réactif.

8.REMARQUES

Ne pas toucher l’échantillon avec le compte-gouttes de façon à ne pas contaminer les latex. Revisser correctement les bouchons après usage pour éviter l’évaporation ou la contamination des réactifs. Remettre le coffret au réfrigérateur après usage et veiller à ce que les flacons restent en position verticale.

9.CULTURE

Les colonies à tester peuvent être prélevées soit sur une gélose Mac Conkey au sorbitol - Oxoid CM0813 (colonies incolores), soit sur un milieu non sélectif. Il est nécessaire de tester environ 10 colonies différentes pour augmenter la probabilité de détecter une souche d’*E coli* O157 qui peut se trouver en culture mixte avec d’autres sérotypes. L’utilisation du latex de contrôle permet de s’assurer que la souche n’est pas autoagglutinable.

10.MODE OPÉRATOIRE

1. Ramener les réactifs au latex à température ambiante. Bien mélanger les suspensions de latex en agitant vigoureusement après avoir vidé le compte-gouttes.

2. Déposer une goutte de latex test sur un cercle de la lame de réaction, près du bord du cercle.

3. Ajouter une goutte de solution saline à l’aide d’une pipette Pasteur. S’assurer que le latex et la solution saline ne se mélangent pas.

4. Prélever à l’oese une partie de la colonie à tester et

l’émulsionner dans la solution saline de façon à obtenir une suspension fine et homogène.

5. Mélanger cette suspension et le latex test en couvrant toute la surface du cercle de réaction.

6. Imprimer à la lame un mouvement de rotation et observer l’agglutination. L’agglutination doit apparaître en une minute maximum. Ne pas utiliser de loupe pour la lecture.

7. Si aucune agglutination n’apparaît, tester une autre colonie.

8. S’il y a agglutination, tester l’autre partie de la colonie avec le latex de contrôle pour s’assurer que la souche n’est pas autoagglutinable.

9. Éliminer la lame de réaction dans une solution désinfectante

11.INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L’agglutination du latex test en moins d’une minute signe un résultat positif et indique la présence d’*E. coli* O157. Si aucune agglutination n’apparaît en une minute, le résultat est négatif et indique l’absence de *E. coli* O157. Les résultats ne peuvent pas être interprétés en cas d’agglutination du latex de contrôle. Certaines souches d’*E. coli* s’émulsionnent difficilement dans la solution saline et peuvent donc donner une réaction filamenteuse avec le latex test et le latex de contrôle. Ce type de réaction n’est pas une véritable agglutination et ne doit pas être pris en compte. Si cette réaction filamenteuse est trop importante pour permettre une interprétation correcte, mettre la colonie en suspension dans 0,3 ml de solution saline. Laisser sédimenter les particules et tester le surnageant.

12.LIMITES DU TEST

Lorsqu’un résultat positif est obtenu avec une colonie non identifiée, des tests biochimiques doivent être réalisés pour confirmer qu’il s’agit bien d’une souche d’*E. coli*. Ni la gélose Mac Conkey au sorbitol, ni le test au latex, ne peuvent prouver que la souche isolée est une souche productrice de toxine. A l’inverse, d’autres sérotypes peuvent produire une véro-cytotoxine Certaines souches d’*Escherichia hermanii* peuvent présenter une fraction antigénique commune avec E. coli O157 et peuvent donc donner une réaction croisée avec le test au latex (Borczyk et coll.)¹. *E. hermanii* peut être différencié d’*E. coli* car il fermente le cellobiose, pousse en présence de KCN et produit un pigment jaune qui peut apparaître tardivement¹⁰.

13.PERFORMANCE DU TEST

Les essais cliniques ont montré une corrélation de 99,3% (151/152) entre le test Oxoid et les antisérums disponibles⁹. La sensibilité du test est de 100% (49/49) et la spécificité de 99% (101/103) L’échantillon divergent a été testé avec un troisième antisérum et a été trouvé positif en Ag O157. Ceci était en accord avec les résultats du test Oxoid. Le réactif Oxoid n’a pas montré de réactions croisées avec d’autres sérotypes d’*E. coli* ou des germes ne fermentant pas le sorbitol. Il a été testé sur différents milieux de culture et aucun n’a donné d’interférence. Les performances du test au latex E.coli O157 ont été évaluées au

Central Public Health Laboratory (CPHL), au Royaume-Uni, dans un laboratoire appelé Laboratory of Enteric Pathogens (1998), à l’aide de souches entièrement caractérisées d’organismes ciblés et non ciblés. Toutes les souches ont été testées après une sous-culture sur de la gélose MacConkey au sorbitol (SMAC) et sur de la gélose MacConkey au sorbitol avec céfixime-tellurite (CT-SMAC). Un nombre plus faible d’organismes a été testé sur CT-SMAC puisque, en raison de sa nature sélective, certains organismes n’ont pas pu être cultivés sur ce milieu. La sensibilité a été calculée à partir des résultats de tests de souches connues d’E. coli O157. Des souches positives au sorbitol et des souches négatives au sorbitol ont été testées et utilisées pour ce calcul. La spécificité a été calculée à partir des résultats de tests de souches connues non E. coli O157 (c.-à-d. d’autres organismes, y compris les autres souches d’E. coli) qui ne fermentent pas le sorbitol (NSF).

Tableau 1. Résultats des tests réalisés sur des organismes cultivés sur SMAC et CT-SMAC.

		SMAC (n=120)		CT-SMAC (n=95)	
		Organisme			
		+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)	+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	+	59	0	52	0
	-	1	60	0	43

Tableau 2. Analyse statistique des données.

	Sensibilité %	Spécificité %
SMAC		
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	98.3	100
CT-SMAC		
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	100	100

Sur la gélose SMAC, une culture (E. coli O157:H9) a donné un faux résultat négatif. Cette culture a également donné un résultat négatif lorsqu’elle a été testée avec un kit concurrent. Elle n’a donc pas fait l’objet d’un nouveau test. Cet organisme n’est pas une souche VTEC (E. coli productrices de vérocytotoxines). Aucune souche VTEC n’a été erronément identifiée par le kit. En outre, un total de 65 souches connues non E. coli O157 qui ne fermentent pas le sorbitol (NSF) ont été testées sur SMAC et 52 sur CT-SMAC. Aucune n’a donné un résultat positif avec le test au latex E. coli O157. On a découvert que l’une des souches qui fermentent pas le sorbitol (Klebsiella oxytoca) s’auto-agglutinait au kit. Après un nouveau test, cette souche positive au sorbitol a donné un résultat négatif.

14. REFERENCES

1. Borczyk A. Lior H. Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.

2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.

3. Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett, 7, 15-17.

4. Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.

5. Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983),Lancet i,619-620.

6. Johnson,W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.

7. March S., and Ratnam (1986) J.Clin. Microbiol.23. - 869-872.

8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin.

Microbial. 25, 1043-1047.

9. P.A.Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying Escherichia coli O157.42:1109-1110.

10. Bremer et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No.4 p.703

11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of Escherichia coli O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679–684

15. LÉGENDE DES SYMBOLES

	Référence catalogue
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Consulter le mode d’emploi
	Limites de température (temp. de stockage)
	Contenu suffisant pour <N> tests
	Code de lot (numéro de lot)
	Utiliser avant (date de péremption)
	Importateur
	Identifiant unique du dispositif
	Représentant autorisé au sein de la Communauté européenne
	Conformité évaluée au Royaume-Uni
	Système européen d’évaluation de la conformité
	Fabricant



 Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW, UK

Para obter assistência técnica, www.thermofisher.com

Version	Date of modifications introduced
X4147D	Avril 2024 Mise à jour afin de répondre aux exigences en matière d’IVDR

E. coli O157 Latex Test

REF

DR0620M.....100 Tests

IT

1. APPLICAZIONI

Test qualitativo di agglutinazione al lattice su vetrino per l’identificazione di conferma di isolati di E. coli sierogruppo O157 coltivati su agar. Il dispositivo è indicato per l’uso in un flusso di lavoro diagnostico per aiutare i medici a individuare opzioni terapeutiche per i pazienti con sospetta infezione batterica.

2. PRINCIPIO DEL TEST

Test di agglutinazione al lattice per l’identificazione di E. coli sierogruppo O157.

Alcuni ceppi di *Escherichia coli* sono stati riconosciuti come causa di colite emorragica (HC) e di sindrome uremica emolitica (HUS). È stato dimostrato che questi ceppi producono una verocitotossina (VT). Nei casi di HC e HUS, il sierotipo O157 : H7 di *E. coli* è quello più frequentemente isolato. L’isolamento di questo sierotipo da feci diarroiche, in particolare se contenenti sangue, indica presuntivamente la presenza di un ceppo produttore di vero-citotossina^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}.

E. coli O157 Latex Test permette di identificare, mediante agglutinazione su vetrino, i ceppi di *E. coli* che possiedono l’antigene O157.

Il test fornisce i migliori risultati quando è utilizzato in associazione con Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM0813). E. coli O157 : H7 non fermenta il sorbitolo e produce colonie incolori. Al contrario, la maggior parte dei sierotipi di E coli fermenta il sorbitolo e forma le caratteristiche colonie rosa.

Il Sorbitol MacConkey Agar è raccomandato come terreno di screening. Successivamente si consiglia di saggiare le colonie isolate, non fermentanti il sorbitolo, con i reagenti al lattice per determinare la loro appartenenza al sierotipo O157 e la conseguente potenziale produzione di VT.

3. MATERIALI COMPRESI NET KIT	
DR 621M Test Latex	Particelle di lattice di colore blu, sensibilizzate con un anticorpo di coniglio specifico contro l’antigene somatico O157, sufficienti per effettuare 100 determinazioni.
DR 622M Control Latex	Particelle di lattice di colore blu, sensibilizzate con immunoglobuline di coniglio aspecifiche, sufficienti per effettuare 100 determinazioni.
DR 623M Positive Control Suspension	Sospensione di E. coli O157 inattivata, in soluzione tampone, sufficiente per effettuare 25 determinazioni,
DR 624M Negative Control Suspension	Sospensione di E. coli O116 inattivata, in soluzione tampone, sufficiente per effettuare 25 determinazioni.
DR 500G Disposable Reaction Cards	Cartoncini di reazione monouso Il kit contiene 35 cartoncini
Foglietto di istruzioni.	

4. MATERIALI ADDIZIONALI RICHIESTI PER L'ESECUZIONE DEL TEST

Anse batteriologiche

Becco Bunsen

Soluzione fisiologica (NaCl 0.85%)

Soluzione disinfettante (per es. soluzione d’ipoclorito di sodio >1.3%)

5. PRECAUZIONI

Il prodotto è indicato esclusivamente per uso diagnostico in vitro.

Non congelare.

I reagenti con numeri di lotto differenti non devono essere interscambiati.

I reagenti contengono, sodio azide come conservante. La sodio azide può reagire a contatto con il rame o il piombo delle tubature producendo azidi metalliche che sono esplosive per detonazione da contatto. Per evitare l’accumulo di azidi nelle tubature, far scorrere molta acqua dopo aver eliminato i residui.

I campioni contenenti microrganismi potenzialmente patogeni devono essere maneggiati con le opportune precauzioni.

Fare riferimento alla scheda di sicurezza, disponibile sul sito web di ThermoFisher, e all’etichetta del prodotto per informazioni sui componenti potenzialmente pericolosi.

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al produttore e all’autorità competente dello Stato membro in cui l’utilizzatore e/o il paziente è ubicato.

In caso di malfunzionamento, non utilizzare il dispositivo.

AVVERTENZA: Questo prodotto contiene sodio azide. Nocivo per ingestione.

6. CONSERVAZIONE
I reagenti devono essere conservati a 2- 8°C. In queste condizioni i reagenti mantengono la loro validità fino alla data di scadenza evidenziata in etichetta.
7. PROCEDURE DI CONTROLLO
Si consiglia di controllare giornalmente, prima dell’esecuzione dei test di routine, il corretto funzionamento dei reagenti al lattice, saggiandoli con le sospensioni di controllo, incluse nella confezione.
La sospensione di controllo positivo deve evidenziare, entro un minuto, una evidente agglutinazione del Test Latex.
La sospensione di controllo negativo, invece, non causerà alcuna agglutinazione delle particelle di lattice entro un minuto.
Non utilizzare il prodotto in presenza di reazioni non appropriate con le sospensioni di controllo.
8. IMPORTANTI NOTE PROCEDURALI
Evitare assolutamente la contaminazione del Test Latex, che può intervenire toccando i campioni, depositati sul cartoncino di reazione, con il contagocce del flacone.
Assicurarsi che i flaconi siano ben chiusi, al fine di prevenire contaminazioni e perdite di reagente.
Dopo l’uso, riporre il kit in frigorifero, assicurandosi che i flaconi siano conservati in posizione verticale.
9. PREPARAZIONE DELLE COLTURE
I ceppi batterici da identificare colonie non fermentanti il sorbitolo (NSF), possono essere prelevati da Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM0813). In alternativa, si possono prelevare

le colonie NSF isolate su terreno non selettivo, per esempio Nutrient Agar. Per garantire un’alta probabilità di evidenziazione del sierotipo O157, che può trovarsi in coltura mista con altri sierotipi di *E. coli* NSF, è necessario saggiare almeno 10 colonie NSF separatamente.

Il Control Latex è utilizzato per verificare che la colonia isolata non appartenga ad un ceppo autoagglutinante.

10. TECNICA

- Portare i reagenti al lattice a temperatura ambiente. Agitare vigorosamente i reagenti al lattice per assicurare l’omogeneità delle sospensioni. Eliminare il lattice eventualmente trattenuto nel contagocce, al fine di ottenere una sospensione completamente omogenea.
- Distribuire una goccia di Test Latex all’interno dell’appropriato cerchio sul cartoncino di reazione.
- Con una pipetta Pasteur aggiungere una goccia di soluzione fisiologica nel medesimo cerchio, facendo attenzione che il lattice e la soluzione fisiologica, in questa fase, rimangano separati.
- Usando un’ansa, prelevare una porzione della colonia da saggiare e sospenderla accuratamente nella goccia di soluzione fisiologica. Assicurarsi che la sospensione risultante sia omogenea.
- Mescolare insieme il lattice e la sospensione e, servendosi di un’ansa, stendere la miscela su tutta l’area delimitata dal cerchio di reazione. Flambare l’ansa.
- Ruotare delicatamente il cartoncino, osservando l’eventuale comparsa di agglutinazione. Non ruotare il cartoncino per più di 1 minuto. Non utilizzare lenti di ingrandimento per la lettura.
- Se non si ottiene agglutinazione, saggiare altre colonie NSF eventualmente presenti.
- In caso di agglutinazione, prelevare un’ulteriore porzione della medesima colonia e saggiarla con il Control Latex per verificare che non si tratti di un ceppo autoagglutinante.
- Eliminare in una soluzione disinfettante i cartoncini di reazione utilizzati.

11. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Reazione positiva: l’agglutinazione del Test Latex interviene in un tempo inferiore al minuto. La reazione positiva segnala la presenza di *E. coli* sierogruppo O157.

Reazione negativa: assenza di agglutinazione entro un minuto. La reazione negativa segnala l’assenza di *E. coli* sierogruppo O157.

I risultati non possono essere interpretati qualora si sia ottenuta agglutinazione sia con il Test Latex che con il Control Latex.

Alcuni ceppi di *E. coli* si sospendono con difficoltà in soluzione fisiologica e possono dare una reazione di tipo vischioso con entrambi i reagenti. Reazioni di questo tipo non devono essere interpretate come vere agglutinazioni e, quindi, trascurate. Se la vischiosità è molto forte e pregiudica una interpretazione corretta, sospendere la colonia In 0.3 ml di soluzione fisiologica. Lasciare sedimentare la frazione più grossolana della sospensione e, utilizzando il sovranatante, ripetere il test.

12. LIMITAZIONI DEL TEST

Se si ottiene reazione positiva da una colonia appartenente ad una specie non ancora identificata, si raccomanda di eseguire prove biochimiche, per confermare l’appartenenza del ceppo alla specie *E. coli*.

Né Sorbitol MacConkey Agar né *E. Coli* O157 Latex Test possano assicurare che la colonia isolata sia produttrice di verocitotossina.

È stato dimostrato che altri sierotipi, diversi dallo O157, sono produttori di vero-citotossina.¹¹

Ceppi di *Escherichia hermanii* possono agglutinare con gli antisieri verso E. coli O157 e con E. coli O157 Latex Test per la presenza di un antigene comune con E. coli O157 (Borczyk et al.)¹. *E. hermanii* può essere differenziata da *E. coli* in base alla ferementazione di *E. hermanii* del cellobiosio, dalla crescita in presenza di KCN e dalla pigmentazione gialla che può apparire in ritardo¹⁰.

13. CARATTERISTICHE DEL METODO

Le valutazioni cliniche condotte per confrontare l’efficienza dell’E. coli O157 Latex Test con quella di antisieri disponibili commercialmente, hanno evidenziato una concordanza tra i due metodi del 99,3 % (151/152)⁹. E. coli O157 Latex Test ha mostrato una sensibilità pari al 100% (49/49) ed una specificità del 99,0% (101/103). Il campione che ha fornito risultati discordi, saggiato ulteriormente è risultato positivo, in concordanza con il test Oxoid.

I reagenti contenuti nell’E. coli O157 Latex Test non hanno evidenziato cross- reazioni con altri microrganismi non fermentanti il sorbitolo. Infine, il test Oxoid è stato utilizzato con Ceppi cresciuti su diversi terreni di coltura, nessuno dei quali ha prodotto interferenze con il test al lattice.

Le prestazioni del test al lattice per la ricerca di E. coli O157 sono state valutate presso il Central Public Health Laboratory (CPHL), Regno Unito, nel Laboratory of Enteric Pathogens (1998), utilizzando ceppi completamente caratterizzati di microrganismi target e non target.

Tutti i ceppi sono stati testati dopo subcoltura su agar Sorbitol MacConkey (SMAC) e agar Sorbitol MacConkey arricchiti con Cefixime Tellurite (CT-SMAC). Un numero inferiore di microrganismi è stato testato da CT-SMAC, poiché, trattandosi di un test di tipo selettivo, non è stato possibile coltivare alcuni microrganismi su questo terreno. La sensibilità è stata calcolata dai risultati dei test su ceppi noti di E. coli O157. Sia i ceppi negativi sia quelli positivi al sorbitolo sono stati testati e utilizzati per calcolare tale valore. La specificità è stata calcolata sulla base dei risultati dei test eseguiti su ceppi noti non E. coli O157, non fermentanti il sorbitolo (Non-Sorbitol Fermenting, [NSF]); vale a dire altri microrganismi, inclusi altri ceppi di E. coli).

Tabella 1. Risultati dei test sui microrganismi coltivati su SMAC e CT-SMAC.

		SMAC (n=120)		CT-SMAC (n=95)	
		Organismo			
		+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)	+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	+	59	0	52	0
	-	1	60	0	43

Tabella 2. Analisi statistica dei dati.

	Sensibilità %	Specificità %
SMAC		
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	98.3	100
CT-SMAC		

<i>E. coli</i> O157 Latex Test	100	100
-----------------------------------	-----	-----

Su SMAC agar una coltura di *E. coli* O157:H9, ha dato un risultato falso negativo. Questa coltura è risultata negativa anche quando testata con un kit competitor e pertanto non è stata ritestata. Questo microrganismo non è un ceppo di *E. coli* produttore di verocitotossina (Verocytotoxin-producing *E. coli*, [VTEC]). Nessun ceppo di VTEC è stato erroneamente identificato dal kit.

Inoltre, un totale di 65 ceppi non *E. coli* O157 fermentanti il sorbitolo sono stati testati da SMAC e 52 da CT-SMAC. Nessuno ha dato un risultato positivo con il test al lattice di *E.coli* O157. Uno dei ceppi fermentanti il sorbitolo (*Klebsiella oxytoca*) è risultato autoagglutinante con il kit. Alla ripetizione del test, questo ceppo positivo al sorbitolo è risultato negativo.

14. REFERENCES

1. Borczyk A, Lior H, Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.
2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.
3. Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett,7, 15-17.
4. Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.
5. Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983),Lancet i,619-620.
6. Johnson,W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.
7. March S., and Ratnam (1986) J.Clin. Microbiol.23. - 869-872.
8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbial. 25, 1043-1047.
9. P.A.Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying *Escherichia coli* O157.42:1109-1110.
10. Bremer et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No.4 p.703
11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of *Escherichia coli* O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679–684

15. SIMBOLO LEGGENDA

	Numero di catalogo
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Consultare le istruzioni per l'uso (IFU)
	Limiti di temperatura (temp. di conservazione)
	Contiene materiali sufficienti per <N> test
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata
	Non riutilizzare
	Codice del lotto (numero di lotto)
	Utilizzare entro (data di scadenza)
	Importatore
	Identificatore univoco del dispositivo

	Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea
	Valutazione di conformità del Regno Unito
	Valutazione di conformità per l'Europa
	Produttore



Oxoid Ltd Wade Road,
Basingstoke, Hampshire,
RG24 8PW, Regno Unito

Per assistenza tecnica, rivolgersi al proprio distributore di zona.

Versione	Data delle modifiche introdotte
X4147D	Aprile 2024 Aggiornato per conformità a IVDR

E. coli O157 Latex Test

REF

DR0620M.....

100

PT

1. UTILIZAÇÃO PREVISTA

Um teste qualitativo de aglutinação de lâminas de látex para a identificação confirmatória de isolados de *E. coli* serogrupo O157 cultivados em ágar. Utilizado num fluxo de trabalho de diagnóstico para ajudar os médicos nas opções de tratamento para doentes suspeitos de terem infeções bacterianas.

2. PRINCÍPIOS DO TESTE

Certas cepas de *Escherichia coli* tem sido relacionadas com casos de colite hemorrágica (CH) e de síndrome urêmica hemolítica (SUH).

Tem sido mostrado que estas cepas produzem uma verocitotoxina (VT). O sorotipo de *E. coli* mais freqüentemente isolado de casos de CH e SUH é o O157:H7. O isolamento deste sorotipo nas fezes diarréicas, particularmente quando se observa presença de sangue, é indicativo de uma cepa produtora de verocitotoxina^{1-2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}.

O teste em latex Oxoid *E. coli* O157 demonstrará por aglutinação em lâmina, cepas de *E. coli* que possuem o antígeno do sorogrupo O157. O teste é melhor utilizado em conjunto com Ágar Sorbitol MacConkey (Oxoid CM0813). As cepas de *E. coli* O157:H7 não fermentam o Sorbitol, dando portanto origem a colônias incolores neste meio. A maioria dos isolados de *E. coli* fermentam o Sorbitol, dando origem a colônias típicas na cor rosa.

O Ágar Sorbitol MacConkey deve ser utilizado como triagem primária. As colônias não fermentadoras de Sorbitol podem ser testadas com reagentes de látex, para determinar se o isolado pertence ao sorogrupo O157, sendo portanto uma cepa potencialmente produtora de VT.

3. COMPONENTES DO KIT

DR621M Látex Teste	Consiste em partículas de látex azul sensibilizadas com anticorpos de coelho específicos reativos com o antígeno somático O157. Cada kit contém reagente suficiente para 100 testes.
DR622M Látex Controle	Consiste em partículas de látex azul sensibilizadas com globulina de coelho pré-imune. Cada kit contém reagente suficiente para 100 testes.
DR623M Suspensão Controle Positivo	Uma suspensão em tampão de células de <i>E. coli</i> O157 inativadas. Suficiente para 25 testes.
DR624M Suspensão Controle Negativo	Uma suspensão em tampão de células de <i>E. coli</i> O116. Suficiente para 25 testes.
DR500G Cartões de Reação	O kit contém 35 cartões de reação descartáveis.
Folheto de Instruções (IFU)	

4. MATERIAIS NECESSÁRIOS

Os seguintes materiais são necessários mas não estão incluídos neste kit:

Alça microbiológica e bico de Bunsen. Solução Salina 0,85%.

Desinfetante apropriado, p. ex. uma solução de hipoclorito de sódio >1,3% p/p.

5. PRECAUÇÕES

Apenas para utilização diagnostica in vitro.

Não congelar.

Reagentes com diferentes números de lotes não devem ser intercambiados.

Os reagentes contêm azida sódica a 0,1% como conservante.

A azida sódica pode reagir com os encanamentos de chumbo ou cobre, formando azidas metálicas explosivas por detonação de contato. Para evitar o acúmulo deste material na tubulação, utilizar grandes volumes de água imediatamente após a eliminação dos resíduos.

As amostras podem conter organismos patogênicos. Manusear corn o devido cuidado.

Consulte a ficha de dados de segurança, disponível no site da ThermoFisher, e a etiquetagem do produto para obter informações sobre componentes potencialmente perigosos.

Qualquer incidente grave que tenha ocorrido e esteja relacionado com o dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador e/ou os pacientes se encontram.

Em caso de mau funcionamento, não utilize o dispositivo

AVISO: Este produto contém azida sódica. Nocivo por ingestão.

6. ARMAZENAGEM

Este kit deve ser armazenado entre 2° e 8°C. Nessas condições os reagentes mantêm sua reatividade até o prazo de validade indicado na caixa do kit.

7. PROCEDIMENTOS DE CONTROLE

As suspensões de controle fornecidas devem ser utilizadas diariamente para verificar o correto funcionamento dos reagentes de látex, antes de se realizarem os testes de rotina.

A suspensão de controle positivo deve mostrar uma aglutinação visível com o reagente de látex no intervalo de um minuto.

A suspensão de controle negativo não deve mostrar nenhuma aglutinação no intervalo de espaço de 1 minuto.

Não utilizar o teste caso as reações com as suspensões controles sejam incorretas.

8. OBSERVAÇÕES IMPORTANTES DE PROCEDIMENTO

Não permitir a contaminação dos reagentes através do contato da ponta do conta-gotas com a amostra que se encontra no cartão de reação.

Depois de utilizar os reagentes, verificar se as tampas estão bem encaixadas, para evitar que os mesmos contaminem ou ressequem.

Depois de utilizar o kit, voltar a colocá-lo no refrigerador, permanecendo os frascos na posição vertical.

9. MATERIAL PARA A CULTURA

Colônias não fermentadoras de Sorbitol (NFS), podem ser retiradas do Ágar Sorbitol MacConkey (Oxoid CM0813) ou alternativamente isolados NFS podem ser inoculados em meios não seletivos como

Agar Nutriente, para serem testados. É necessário realizar o teste em pelo menos 10 colônias de NFS distintas para assegurar com grande probabilidade a identificação de quaisquer cepas de O157 que estejam em cultura mista com *E. coli* NFS de outros sorotipos. A utilização do látex controle permite assegurar que o isolado não seja uma cepa auto- aglutinante.

10. MÉTODO DE PROCEDIMENTO

- Deixe os reagentes atingirem a temperatura ambiente antes de utilizar. Agitar vigorosamente os frascos para misturar as suspensões de látex. Expelir o látex que se encontra no conta-gotas, para obter uma mistura totalmente homogênea.
- Dispensar 1 gota do látex teste no círculo do cartão de reação. Colocar a gota próximo a borda do círculo.
- Adicionar ao círculo soro fisiológico utilizando algumas alças ou uma gota da pipeta Pasteur. Não deixar o látex e o soro fisiológico se misturarem.
- Utilizando uma alça, coletar uma parte da colônia que se deseja testar, emulsionando-a cuidadosamente na gota de soro fisiológico. Homogeneizar completamente a suspensão.
- Misturar o látex teste a suspensão e espalhar a mistura com a alça, de forma a cobrir a área da reação. Levar a alça a uma chama.
- Empreender movimentos circulares ao cartão, procurando visualizar sinais de aglutinação. Não movimentar o cartão durante mais de 1 minuto e não utilizar uma lente.
- Se não for observada nenhuma aglutinação, testar outras colônias de NFS, caso estejam presentes.
- Se a aglutinação com o reagente teste ocorrer, torna-se necessário testar outra porção da colônia com o reagente látex controle, para garantir que o isolado não é uma cepa auto- aglutinante.
- Quando finalizado, descartar o cartão de reação em recipiente contendo solução desinfetante.

11. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

A aglutinação do látex teste no espaço de um minuto demonstra um resultado positivo, indicando a presença do sorogrupo *E. coli* O157. A ausência de qualquer aglutinação no espaço de um minuto é um resultado negativo, indicando a ausência do sorogrupo *E. coli* O157.

Resultados não podem ser interpretados se a aglutinação for observada no látex teste e no látex controle.

Algumas cepas de *E. coli* são difíceis de serem emulsionadas ao soro fisiológico, podendo também apresentar uma reação filamentosa com os reagentes teste e controle. Esta reação não se assemelha à verdadeira aglutinação e deve ser ignorada. Caso esta viscosidade seja demasiado pronunciada para permitir uma avaliação correta, ressuspender a colônia em 0,3 ml de soro fisiológico. Deixar sedimentar os fragmentos e testar o líquido sobrenadante homogêneo.

12. LIMITAÇÕES DO TESTE

Se um resultado positivo for obtido em uma colônia de espécie desconhecida, testes bioquímicos devem ser realizados para confirmar se o organismo é uma cepa de *E. coli*.

Nem o Ágar Sorbitol MacConkey nem o teste de látex *E. coli* O157 confirmarão diretamente se o isolado é ou não uma cepa produtora de toxina.

Outros sorotipos produtores de verocitotoxina foram encontrados.

Algumas cepas de *Escherichia hermanii* podem apresentar reação cruzada com os soros de *E. coli* O157 no teste de látex devido a um antígeno compartilhado por ambos (Borczyk et al)¹¹.

E. hermanii pode ser diferenciado de *E. coli* por serem fermentadores de celobiose, crescerem na presença de KCN e produzirem um pigmento amarelo, o qual pode ser tardio¹⁰.

13. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Nas comparações clínicas entre o desempenho do teste de látex Oxoid *E. coli* O157 e de antisoros comerciais, os resultados demonstraram uma concordância de 99,3% (151/152) entre os dois métodos9. A sensibilidade do teste Oxoid foi de 100% (49/49), e a especificidade de 99,0% (101/103). A amostra discrepante foi novamente testada e o resultado foi positivo para *E. coli* O157, concordando com o resultado do teste Oxoid.

Os reagentes Oxoid não mostraram uma reatividade cruzada com outras cepas de *E. coli* ou com organismos não fermentadores de Sorbitol. O teste Oxoid foi realizado diretamente a partir de uma variedade de meios de cultura.

Nenhum destes meios demonstrou causar interferência com o teste de látex.

O desempenho do teste do látex de *E. coli* O157 foi avaliado no Central Public Health Laboratory (CPHL), Reino Unido, no Laboratory of Enteric Pathogens (1998), utilizando estirpes totalmente caracterizadas de organismos-alvo e não-alvo.

Todas as estirpes foram testadas após subcultura em ágar Sorbitol MacConkey (SMAC) e ágar Sorbitol MacConkey com suplemento de Cefixima Telurite (CT-SMAC). Foi testado um menor número de organismos em CT-SMAC, uma vez que, devido à sua natureza seletiva, alguns organismos não podiam ser cultivados neste meio. A sensibilidade foi calculada a partir dos resultados dos testes de estirpes conhecidas de *E. coli* O157. Para o cálculo da sensibilidade, foram testadas e utilizadas estirpes sorbitol negativas e sorbitol positivas. A especificidade foi calculada a partir dos resultados dos testes de estirpes conhecidas que não fermentam sorbitol (NSF) e que não são *E. coli* O157 (ou seja, outros organismos, incluindo outras estirpes de *E. coli*).

Tabela 1. Resultados dos organismos de teste cultivados em SMAC e CT-SMAC.

		SMAC (n=120)		CT-SMAC (n=95)	
		Organism			
		+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)	+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	+	59	0	52	0
	-	1	60	0	43

Tabela 2. Análise estatística de dados.

	Sensitivity %	Specificity %
SMAC		
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	98.3	100
CT-SMAC		
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	100	100

Em ágar SMAC, uma cultura, uma *E. coli* O157:H9, deu um resultado falso negativo. Esta cultura também foi negativa quando testada com um kit concorrente, pelo que não foi testada

novamente. Este organismo não é uma estirpe de E. coli produtora de verocitotoxina (VTEC). O kit não identificou incorretamente nenhuma estirpe VTEC.

Além disso, foi testado um total de 65 estirpes de SMAC e 52 de CT-SMAC que não eram E. coli O157 e que fermentavam sorbitol. Nenhuma deu um resultado positivo no teste do látex para E. coli O157. Verificou-se que uma das estirpes fermentadoras de sorbitol (Klebsiella oxytoca) se auto-aglutinava com o kit. Ao repetir o teste, verificou-se que esta estirpe sorbitol positiva era negativa.

14. REFERENCES

1. Borczyk A, Lior H, Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.

2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.

3. Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett,7, 15-17.

4. Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.

5. Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983),Lancet i,619-620.

6. Johnson,W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.

7. March S., and Ratnam (1986) J.Clin. Microbiol.23. - 869-872.

8. Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbial. 25, 1043-1047.

9. P.A.Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying Escherichia coli O157.42:1109-1110.

10. Bremer et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No.4 p.703

11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of Escherichia coli O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679–684

15. LEGENDA DOS SÍMBOLOS

	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Consultar as Instruções de utilização (IFU)
	Limitações de temperatura (temp. de armazenamento)
	Conteúdo suficiente para <N> testes
	Código de lote (número de lote)
	Utilizar até (data de expiração)
	Importador
	Identificação única do dispositivo
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Conformidade avaliada no Reino Unido
	Avaliação de conformidade europeia
	Fabricante



Oxoid Limited, Wade Road, Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW, UK

Para obter assistência técnica, www.thermofisher.com

Version	Date of modifications introduced
X4147D	Abril 2024
Atualizado para cumprir requisitos de IVDR	

E. coli O157 Latex Test

SE

REF

DR0620M.....100 Tests

1. AVSEDD ANVÄNDNING

Ett kvalitativt latexagglutinationstest för bekräftande identifiering av E. coli serogrupp O157-isolat odlade på agar. Används i ett diagnostiskt arbetsflöde för att hjälpa kliniker med behandlingsalternativ för patienter som misstänks ha bakterieinfektioner.

2. TESTETS PRINCIP

En latexagglutinationstest för identifiering av E. coli serogrupp O157.

Vissa stammar av *Escherichia coli* har satts i samband med hemorragisk kolit (HC) och hemolytiskt uremiskt syndrom (HUS). Dessa stammar har visats sig producera ett verocytotoxin (VT).

E. coli serotyp O157:H7 är den mest frekventa som isolerats från HC- och HUS-fall. Isolering av denna serotyp från en diarroisk faeces, i synnerhet med förekomst av blod, är indikativ för en verocytotoxin producerande starn^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}.

Latextesten för E. coli O157 påvisar genom agglutination *E. coli*-stammar som innehåller O157-serogruppantigenen.

Testen används bäst tillsammans med Sorbitol MacConkey-Agar (Oxoid CM0813). E. coli O157:H7-stammar jäser inte sorbitol och ger därför färglösa kolonier på detta media. De flesta *E. coli*-isolat jäser sorbitol och ger upphov till karakteristiska rosa kolonier.

Sorbitol MacConkey-Agar används vid primär avläsning. De icke-sorbitoljäsende kolonierna kan sedan testas med latexreagenser för att fastställa om isolatet tillhör O157-serogruppen och därför en potentiell VT-producerande stam.

3. KITETS INNEHÅLL

DR621M Testlatex

Innehåller blå latexpartiklar som sensibiliserats med specifika kaninantikroppar som reagerar med somatiskt O157-antigenen. Varje kit innehåller reagens som räcker till 100 tester.

DR622M Kontrollatex

Innehåller blå latexpartiklar som sensibiliserats med pre-immuniserat kaninglobulin. Varje kit innehåller reagens som räcker till 100 tester.

DR623M Positiv kontrollsuspension

En lösning med inaktiverade E. coli O157-celler i buffert. Räcker till 25 tester.

DR624M Negativ kontrollsuspension

En lösning med E. coli O116- celler i buffert. Räcker till 25 tester.

DR500G Agglutinationskort

Kitet innehåller 35 agglutinationskort för engångsbruk.

Metodbeskrivning

4. MATERIAL SOM BEHÖVS

Följande material behövs men ingår inte i kitet:

Steril ögla.

0,85%- saltlösning

Lämpligt desinfektionsmedelmedel, t.ex. natriumhypokloritlösning > 1,3% v/v.

5. FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Denna produkt är endast avsedd för in vitro-bruk.

Får inte frysas.

Blanda inte reagenser från kit med olika batchnummer.

Reagenserna innehåller 0,1% natriumazid som konserveringsmedel. Natriumazid kan reagera med bly- eller kopparledningar och bilda metallazider som i sin tur är explosivt. För att förebygga att natriumazid inte ackumuleras i ledningarna, spola rikligt med vatten direkt efter kassering.

Provmaterialet kan innehålla patogena organismer, beakta därför lämpliga försiktighetsåtgärder.

Se säkerhetsdatabladet, som finns på ThermoFishers webbplats, och produktmärkningen för information om potentiellt farliga komponenter.

”Alla allvarliga incidenter som har inträffat i förhållande till enheten ska rapporteras till tillverkaren och till den behöriga myndigheten i den medlemsstat där användaren eller patienten befinner sig.”

Använd inte instrumentet i händelse av funktionsfel.

WARNING: Denna produkt innehåller natriumazid. Farligt vid förtäring.

6. FÖRVARING

Förvara kittet vid 2 till 8°C. Vid denna temperatur behåller reagenserna sin aktivitet till den sista användningsdag som anges på förpackningen.

7. KONTROLLPROCEDUR

De medföljande kontrollsuspensionerna ska användas för kontroll av att latexreagenserna fungerar, innan rutinmässiga tester genomförs.

Den positiva kontrollsuspensionen måste visa synbar agglutination med latexreagensen inom 1 minut.

Den negativa kontrollsuspensionen skall inte agglutinera inom 1 minut.

Använd inte testet om kontrollsuspensionernas reaktion blir felaktiga.

8. VIKTIG INFORMATION OM UTFÖRANDET

Se till att reagenserna inte kontamineras genom att pipettspetsen kommer i kontakt med proven på agglutinationskortet.

Se till att locken är ordentligt åtskruvade efter användningen, så att reagenserna inte kontamineras eller torkar ut.

Ställ tillbaka kittet i kylskåpet efter användningen och se till att flaskorna förvaras stående.

9. ODLINGSMATERIAL

Icke-sorbitoljäsende (NSF) kolonier kan plockas från Sorbitol MacConkey-Agar (Oxoid CM0813) eller också kan NSF-isolat inokuleras på icke-selektiva medier såsom Nutrient Agar för att testas. Det är nödvändigt att testa upp till 10 separata NSF-kolonier för att med högsta sannolikhet detektera eventuella O157- stammar som kan finnas i en blandad odling med NSF-*E. coli* av andra serotyper. Användning av kontrollatexten säkerställer att isolatet inte är en autoagglutinerande stam.

10. TESTMETOD

1. Se till att latexreagenserna uppnår rumstemperatur. Blanda om latexsuspensionen ordentligt genom att skaka kraftigt Töm eventuell latex från droppipetten till flaskan för

- fullständig blandning.
2. Tillsätt 1 droppe av testlatexen på en cirkel på reaktionskortet. Placera den nära kanten på cirkeln.
3. Tillsätt en droppe saltlösning från några fulla sterila öglor, eller en pasteuripett till cirkeln. Se till att latexten och saltlösningen inte blandar sig med varandra i detta skede.
4. Ta med en ögla upp en del av kolonin för testning, och blanda den försiktigt i saltlösningen. Se till att det blir en jämn suspension.
5. Blanda testlatexen och bakteriesuspensionen och sprid med ögla så att blandningen täcker reaktionsområdet.
6. Vagga kortet försiktigt i en cirkelrörelse och titta efter agglutination. Vagga inte kortet i mer än 1 minut, använd inte förstoringsglas vid avläsningen.
7. Om det inte blir någon agglutination gå då vidare och testa andra NSF kolonier om sådana finns.
8. Om agglutination med testreagensen sker är det nödvändigt att testa ytterligare en del av kolonin med kontrollatexen för att försäkra sig om att isoiatet inte är en autoagglutinerande stam.
9. Kassera agglutinationskorten i ett desinfektionsmedel.

11. TOLKNING AV TESTRESULTAT

Om agglutination av testlatexen sker inom en minut innebär det ett positivt resultat. Detta indikerar förekomst av *E. coli* serogrupp O157. Om ingen agglutination sker inom en minut innebär det ett negativt resultat. Detta innebär avsaknad av *E. coli* serogrupp O157.

Resultaten kan inte tolkas om såväl test- som kontrollatexen agglutinerar.

Vissa stammar av *E. coli* är svåra att blanda med saltlösningen och kan ge upphov till en trädig reaktion med såväl test- som kontrollreagenserna. Detta ser inte ut som en riktig agglutination och skall ignoreras. Om trädigheten visar sig vara för grav för att göra en korrekt bedömning skall kolonin slammas upp i 0,3 ml saltlösning. Låt klumparna sjunka och testa sedan den jämna supernatanten på nytt.

12. TESTETS BEGRÄNSNINGAR

Om ett positivt resultat erhålls med en koloni av okänd art skall biokemiska tester utföras för att bekräfta om organismen är en *E. coli*-stam.

Varken Sorbitol MacConkey-Agar- eller E. coli O157-latextesten bekräftar att isolatet är en toxinproducerande stam.

Andra serotyper som producerar verocytotoxin har påträffats.¹¹

Vissa stammar av *Escherichia hermanii* kan korsreagera med E coli O157-serum och latextesten på grund av ett gemensamt antigen (Borczyk et al)¹. *E. hermanii* bör differentieras från *E. coli* genom att *E. hermanii* har cellobiosjäsning, växer i närvaro of KCN och producerar ett gult pigment, som kan vara fördröjd¹⁰.

13. TESTETS PRESTANDA

Vid kliniska jämförelser av prestandan för Oxoids E. coli O157-latextest och kommersiella antiserum visade resultaten en överensstämmelse på 99,3% (151/152) mellan de två metoderna⁹. Känsligheten för Oxoidtesten var 100% (49/49) och specificiteten var 99,0% (101/103). De avvikande proven testades ytterligare och befanns vara positiva för E. coli O157. Detta överensstämde med resultatet av Oxoidtesten.

Oxoidreagenserna korsreagerade inte med andra *E. coli*-stammar eller icke- sorbitoljäsende organismer. Oxoidtesten utfördes

direkt från olika odlingsmedier. Inget av dessa medier inverkade störande på latextesten.

Prestandan hos E. coli O157-latextestet utvärderades vid Central Public Health Laboratory (CPHL), Storbritannien, i Laboratory of Enteric Pathogens (1998), med användning av fullständigt karakteriserade stammar av mål- och icke-målorganismer.

Alla stammar testades efter subkultur på Sorbitol MacConkey-agar (SMAC) och Sorbitol MacConkey-agar innehållande Cefixime Tellurite-tillskott (CT-SMAC). Ett färre antal organismer testades från CT-SMAC, eftersom vissa organismer på grund av dess selektiva natur inte kunde odlas på detta medium. Sensitiviteten beräknades utifrån resultaten av testning av kända E. coli O157-stammar. Både sorbitolnegativa och sorbitolpositiva stammar testades och användes för att beräkna detta. Specificiteten beräknades utifrån resultaten av testning av kända icke-sorbitolfermenterande (NSF), icke-E. coli O157-stammar (dvs. andra organismer, inklusive andra E. coli-stammar).

Tabell 1. Resultat av testning av organismer odlade på SMAC och CT-SMAC.

		SMAC (n=120)		CT-SMAC (n=95)	
		Organism			
		+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)	+ (i.e. <i>E. coli</i> O157)	- (i.e. non- <i>E. coli</i> O157)
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	+	59	0	52	0
	-	1	60	0	43

Tabell 2. Statistisk analys av data.

	Sensitiviteten %	Specificiteten %
SMAC		
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	98.3	100
CT-SMAC		
<i>E. coli</i> O157 Latex Test	100	100

På SMAC-agar gav en kultur, en E. coli O157:H9, ett falskt negativt resultat. Denna kultur var också negativ när den testades med ett konkurrerande kit och testades därför inte på nytt. Denna organism är inte en verocytotoxinproducerande E. coli (VTEC)-stam. Inga VTEC-stammar identifierades felaktigt av kitet.

Dessutom testades totalt 65 sorbitolfermenterande, icke-E. coli O157-stammar från SMAC och 52 från CT-SMAC. Ingen gav ett positivt resultat med E. coli O157-latextestet. En av de sorbitolfermenterande stammarna (Klebsiella oxytoca) befanns autoagglutinera med kitet. Vid upprepade testning befanns denna sorbitolpositiva stam vara negativ.

14. REFERENCES

- Borczyk A, Lior H, Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.
- Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.
- Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett, 7, 15-17.
- Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.
- Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983),Lancet i,619-620.
- Johnson,W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.
- March S., and Ratnam (1986) J.Clin. Microbiol.23. - 869-872.
- Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbial. 25, 1043-1047.

9. P.A.Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying Escherichia coli O157.42:1109-1110.

10. Bremer et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No.4 p.703

11. Westerman, R. B., Yongsheg, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of Escherichia coli 0157. J. Clin. Microbiol. 35, 679–684

15. SYMBOLEN LEGEND

	Katalognummer
	Medicinteknisk produkt för in vitrodiagnostik
	Se bruksanvisningen (IFU)
	Temperaturbegränsningar
	Innehåller tillräckligt för <N> test
	Använd inte om förpackningen är skadad
	Återanvänd inte
	Partikod
	Bäst före (utgångsdatum)
	Importör
	Unik enhetsidentifierare
	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen
	Bedömning av överensstämmelse, Storbritannien
	Bedömning av överensstämmelse, Storbritannien
	Tillverkare



För alla frågor kontakta din lokala distributör.



Oxoid Limited, Wade Road, Hampshire
Basingstoke, RG24 8PW, UK
+44 (0) 1256 841144 thermofisher.com

Version	Date of modifications introduced
X4147D	April 2024
	Uppdaterad för överensstämmelse med IVDR