



Key Code TSMX5326D
www.thermofisher.com

Europe 00800 135 79 135 US 1 855 2360 910
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

DrySpot E.coli O157 Latex Test

REF DR0120M..... 120

1. INTENDED USE

A qualitative latex slide agglutination test for the confirmatory identification of *E. coli* serogroup O157 isolates grown on agar. The device is 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. PRINCIPLE OF THE TEST

Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* belong to a number of O serogroups with O157 being most significant in human disease. The potentially verocytotoxin (VT)-producing strains are associated with a range of symptoms from non-bloody diarrhoea, fever and vomiting to cases of haemorrhagic colitis (HC) and haemolytic uraemic syndrome (HUS).^{1,2,3,4,5,6,7,8}

The DrySpot *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) or Sorbitol MacConkey Agar with Cefixime Tellurite Supplement (SR0172).

The majority of *E. coli* O157:H7 strains do not ferment sorbitol and therefore give colourless colonies on this medium. The majority of non-O157 *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 is a potential VT-producing strain.

Production of verotoxin may be confirmed with the Oxoid VTEC-RPLA kit (TD960A).

3. COMPONENTS OF THE KIT (DR0120M)

DR0121M DrySpot E. coli O157 Test Reagent Cards
A suspension of synthetic blue latex particles coated with antibody specifically reactive with the *E. coli* O157 serogroup antigen (Test reaction area). A suspension of synthetic blue latex coated with pre-immune rabbit globulins (Control reaction area). Four pouches each containing 10 cards and a moisture absorbent sachet. There are 3 test and 3 control reaction areas on each card – 120 tests in total.

DR0122M Positive control strips (10 sticks – pink spots)
Pink-dyed inactivated antigenic extract of *E. coli* O157.

DR0123M Negative control strips (10 sticks – green spots)
Green-dyed inactivated antigenic extract of *E. coli* O116.

Mixing paddles (2 bags)
Pouch Clips (2)
Instructions for Use (IFU)

Materials required but not provided
Saline (0.9% NaCl prepared using distilled or deionised water)
Microbiological loop and bunsen burner
A suitable laboratory disinfectant
A timer.

4. PRECAUTIONS

IVD

This product is for *in vitro* diagnostic use only.

Specimen materials may contain pathogenic organisms. Handle with the appropriate precautions.

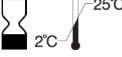
For professional use only.

In the event of malfunction do not use device.

Please refer to the Material Safety Data Sheet (MSDS), available on ThermoFisher 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.

5. STORAGE AND OPENING


This kit must be stored between 2°C and 25°C. If stored in a cold environment, allow pouches to equilibrate to room temperature before opening to prevent condensation of moisture on the cards. The dry reagents will deteriorate and give false results if they are allowed to absorb moisture.

Open the pouches by cutting with scissors just below the seal. Once opened, remove the number of cards required for immediate testing (testing within the next 10 minutes) and re-seal the pouch immediately by clamping the open end of the bag between the two halves of the plastic clip.

If fewer tests are required cut the reaction cards along the indicated lines and return the unused portions to the pouch. Do not return used portions because they will cause contamination of remaining cards in the pouch.

The control sticks are also provided in a moisture impermeable pouch. Ensure that the same techniques are used to avoid moisture damage.

Under these conditions the reagents will retain their activity until the expiry date shown on the kit box.

6. CONTROL PROCEDURES

The dried control sticks provided should be used in the following way to check the correct working of the latex reagent each day before routine tests are performed.

Add a 50 µl drop of saline to the small circle at the base of the test oval reaction area. Remove a positive control card stick from the pouch by tearing one off from the others on the strip, take care to avoid touching the flexible end where the dry spots are located. Re-seal the inner bag and pouch. Turn the stick over so that the coloured spots are at the bottom and place the stick on the card with the spots touching the liquid. Push down so that the end bends at the hinge and mix in a circular manner for 10 seconds to rehydrate the dried reagent. Continue to use the stick to mix the liquid into the DrySpot O157 test reagent until all the reagents are fully rehydrated and homogeneous. Rock the card and look for agglutination. This procedure should be repeated using a negative control stick.

The positive control DR0122M must show agglutination with the dried test reagent within 1 minute.

The negative control DR0123M must show no agglutination within 1 minute.

Do not use the test if reactions with the control reagents are incorrect.

7. IMPORTANT PROCEDURE NOTES

Do not touch the circles on the reaction cards as this may cause contamination and thereby affect the reaction.

In a high humidity environment do not leave pouches open for more than 2 minutes. If there is evidence of moisture in the spots do not use.

Do not place the drop of saline directly onto the dry latex spots.

Pouch clips should be retained for future use to allow multiple packs to be opened. Although suitable for room temperature storage the kit or pouches must not be stored near heat sources. They should not be stored where exposure to sunlight may cause increased temperatures.

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

The positive control must cause visible agglutination with the latex reagent within 1 minute.

The negative control must not cause agglutination within 1 minute.

Do not use the test if reactions with the control suspensions are incorrect.

8. CULTURE MATERIAL

Non-sorbitol fermenting (NSF) colonies may be taken from Sorbitol MacConkey Agar or Sorbitol MacConkey Agar with Cefixime Tellurite Supplement.

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 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.

9. TEST METHOD

1. Add 1 drop (50 µl) of saline (0.9%) to the small ring (at the bottom of each oval) in both the test and control reaction areas ensuring that the liquid does not mix with the dried latex reagents.
2. Use a sterile loop (or one of the paddles provided) to pick-up a portion of the suspect colony from a culture media plate and carefully emulsify in the saline drop. Ensure that the resulting suspension is smooth.

3. Using the provided paddle mix the suspension into the dry latex spots until completely suspended and spread to cover the reaction area. Discard the loop-paddle appropriately.
4. Using a separate loop or paddle, proceed in the same way with the Control Latex.
5. Pick up and rock the card for up to 60 seconds and look for agglutination under normal lighting conditions. Do not use a magnifying glass.
6. When the test is completed dispose of reaction cards safely into disinfectant.

10. READING AND INTERPRETATION OF RESULTS

Positive Result
A result is positive if agglutination of the latex particles occurs within 1 minute.

This indicates the presence of *E. coli* serogroup O157.

Negative Result
A negative result is obtained if no agglutination occurs and a smooth blue suspension remains after 60 seconds in the test area.

Reactions occurring after 60 seconds should be ignored.

Uninterpretable Result
The test is uninterpretable if the control reagent shows agglutination. This indicates that the culture causes autoagglutination.

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.

If stringiness is found to be too severe for a correct judgement to be made then another colony should be suspended in 0.3 ml of saline. Allow the lumps to settle and re-test this smooth supernatant.

11. LIMITATIONS OF THE TEST

Mixing paddles provided are not sterile. These may be sterilised locally if required.

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 verocytotoxin.

Strains of *Escherichia hermanii* cross react with *E. coli* O157 sera and the latex test due to a shared antigen.¹

In addition other bacterial strains have been identified with epitopes that mimic those of *E. coli* O157 lipopolysaccharide.¹⁰

E. hermanii may be differentiated from *E. coli* by the former's fermentation of cellobiose growth in the presence of potassium cyanide (KCN), negative reaction in the 4-Methylumbelliferone glucuronide (MUG) assay and yellow pigmentation, which may be delayed.¹¹

12. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance of DrySpot *E. coli* O157 kit was evaluated at one clinical microbiology laboratory in Great Britain. Previously characterised strains of *E. coli* O157 and other non-sorbitol fermenting enterobacteriaceae were tested with this kit and with two other commercially available latex tests.

The sensitivity of DrySpot *E. coli* O157 kit was calculated to be 98.3%.

The specificity of DrySpot *E. coli* O157 kit was calculated to be 100%.

The results of the evaluation are summarised below:

Organism	Total tested	DrySpot E. coli O157 test result	
		Positive	Negative
<i>E. coli</i> O157	60	59	1*
Other non-sorbitol fermenting enterobacteriaceae	30	0	30

* A false negative reaction was recorded for an *E. coli* O157:H9 (VT-) which gave a negative result with all latex kits tested.

13. REFERENCES

1. Borczyk, A., Lior, H. and Ciebin, B. (1987). False positive identifications of *Escherichia coli* O157 in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 4, 347–349.

2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric, S. (1977). Vero Response to a Cytotoxin of *Escherichia coli*. *Vero Infect. Immun.* 18, 775–779.

3. Scotland, S., Day, N. and Rowe, B. (1980). Production of a Cytotoxin Affecting Vero Cells by strains of *Escherichia coli* belonging to Traditional Enteropathogenic Serogroups. *FEMS Microbiol. Lett.* 7, 15–17.

4. Centers for Disease Control. (1982). Isolation of *E. coli* O157:H7 from Sporadic Cases of Hemorrhagic colitis United States. *Morbid. Mortal. Wkly* 31, 580–585.

5. Karmali, M., Still, B. et al. (1983). Sporadic cases of Haemolytic-Uraemic Syndrome Associated with Faecal Cytotoxin and Cytotoxin-Producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet* i, 619–620.

6. Johnson, W., Lior, H. and Bezanson, G. S. (1983). Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Haemorrhagic colitis in Canada. *Lancet* i, 76.

7. March, S. and Ratnam (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. *J. Clin. Microbiol.* 23, 869–872.

8. Krishnan, C., Fitzgerald, et al. (1987). Laboratory Investigation of Outbreak of Haemorrhagic Colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. *J. Clin. Microbiol.* 25, 1043–1047.

9. Chapman, P. A. (1989). Evaluation of Commercial Latex Slide test for Identifying *Escherichia coli* O157. *J. Clin. Pathol.* 42, 1109–1110.

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

11. Brenner et al. (1982) Atypical biogroups of *Escherichia coli* found in clinical specimens and description of *Escherichia*

14. 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 www.thermofisher.com

Version	Date of modifications introduced
X5326D	April 2024
	Updated to meet IVDR requirements



Key Code TSMX5326D
www.oxid.com/ifu

Evropa 00800 135 79 135 USA 1 855 2360 910
Kanada 1 855 805 8539 Zbytek světa +31 20 794 7071

Latexový test DrySpot E. coli O157

REF DR0120M..... ▽ 120

1. URČENÉ POUŽITÍ

Kvalitativní latexový aglutinační test prováděný na skličku pro konfirmační identifikaci izolátů *E. coli* séroskupiny O157 kultivovaných na agaru. Prostředek se používá 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. PRINCIP TESTU

Enterohemoragické *Escherichia coli* patří do řady séroskupin O, přičemž nejvýznamnější z hlediska lidských onemocnění je O157.

Kmeny potenciálně produkující verocytotoxin (VT) jsou spojovány s celou řadou příznaků od nekrvavých průjmů, horečky a zvracení až po případy hemoragické kolitidy (HC) a hemolyticko-uremického syndromu (HUS).^{1,2,3,4,5,6,7,8}

Latexový test DrySpot *E. coli* O157 prokáže aglutinaci na skličku kmeny *E. coli* s antigenem séroskupiny O157. Test je nejlepší používat ve spojení se sorbitol MacConkeyovým agarem (Oxoid CM0813) nebo sorbitol MacConkeyovým agarem s doplňkem v podobě teluričitanového cefiximu (SR0172).

Většina kmenů *E. coli* O157:H7 sorbitol nefermentuje, a proto na tomto médiu vytváří bezbarvé kolonie. Většina izolátů *E. coli* jiných než O157 sorbitol fermentuje 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 séroskupiny O157, a je tedy potenciálním kmenem produkujícím VT.

Produkci verotoxinu lze potvrdit pomocí soupravy Oxoid VTEC-RPLA (TD960A).

3. OBSAH SOUPRAVY (DR0120M)

DR0121M Reagenční karty pro test DrySpot E. coli O157
Suspenze syntetických modrých latexových částic potažených protilátkou specificky reagující s antigenem séroskupiny O157 *E. coli* (testovací reakční oblast). Suspenze syntetických modrých latexových částic preimunními králičími globuliny (kontrolní reakční oblast). Čtyři pytlíky, z nichž každý obsahuje 10 karet a sáček pohlcující vlhkost. Na každé kartě jsou 3 testovací a 3 kontrolní reakční oblasti – celkem 120 testů.

DR0122M Proužky s pozitivní kontrolou (10 proužků – růžová kolečka) Růžově zbarvený inaktivovaný antigenní extrakt *E. coli* O157.

DR0123M Proužky s negativní kontrolou (10 proužků – zelená kolečka) Zeleně zbarvený inaktivovaný antigenní extrakt *E. coli* O116.

Míchací lopatky (2 sáčky)

Klipy na pytlíky (2)

Návod k použití

Požadované materiály, které nejsou součástí dodávky

Fyziologický roztok (0,9% NaCl připravený z destilované nebo deionizované vody)

Mikrobiologická klička a Bunsenův kahan

Vhodný laboratorní dezinfekční prostředek

Časovač.

4. BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

IVD

Tento produkt je určen pouze pro diagnostické použití *in vitro*.

Materiály vzorků mohou obsahovat patogenní organismy. Zacházejte s nimi v souladu s příslušnými bezpečnostními opatřeními.

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 ThermoFisher, 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.

5. SKLADOVÁNÍ A OTEVÍRÁNÍ



Tato souprava musí být skladována při teplotě od 2 °C do 25 °C. Pokud je skladována v chladném

prostředí, nechte pytlíky před otevřením vytemperovat na pokojovou teplotu, abyste zabránili kondenzaci vlhkosti na kartách. Pokud suchá činidla absorbují vlhkost, zhorší se jejich kvalita a poskytnou falešné výsledky.

Pytlíky otevřete přestřížením nůžkami těsně pod uzavřením.

Po otevření vyjměte počet karet potřebný pro okamžité testování (tj. testování během následujících 10 minut) a sáček ihned znovu uzavřete sevřením otevřeného konce sáčku mezi oběma polovinami plastového klipu.

Pokud je požadováno méně testů, rozstříhnete reakční karty podél vyznačených čar a nepoužité části vraťte do pytlíku. Použité části nevracejte, protože by způsobily kontaminaci zbývajících karet v pytlíku.

Kontrolní tyčinky jsou rovněž dodávány v pytlíku nepropouštějícím vlhkost. Dbejte na to, abyste používali stejnou techniku, aby nedošlo k poškození v důsledku vlhkosti.

Za těchto podmínek si činidla zachovávají svou aktivitu až do data expirace uvedeného na krabici soupravy.

6. KONTROLNÍ POSTUPY

Ke kontrole správného fungování latexového činidla by se každý den před provedením rutinních testů měly používat dodané vysušené kontrolní tyčinky a to tak, jak je uvedeno dále.

Kápněte 50 µl fyziologického roztoku do malého kroužku na základně testovací oválné reakční oblasti. Vyjměte tyčinku s pozitivní kontrolou pro kartu z pytlíku tím, že ji odtrhnete od ostatních na proužku. Dbejte na to, abyste se nedotkli ohebného konce, kde se nacházejí suchá kolečka. Znovu uzavřete vnitřní sáček a pytlík. Otočte tyčinku tak, aby barevná kolečka byla dole, a položte ji na kartu tak, aby se kolečka dotýkala kapaliny. Zatlačte dolů tak, aby se konec ohnul v kloubu, a krouživým pohybem míchejte po dobu 10 sekund, aby se vysušené činidlo rehydratovalo. Pokračujte ve vmíchávání kapaliny do testovacího činidla DrySpot O157 pomocí tyčinky, dokud nejsou všechna činidla zcela rehydratovaná a homogenní. Zakývejte kartou a sledujte, zda dochází k aglutinaci. Tento postup je třeba opakovat s použitím tyčinky s negativní kontrolou.

Pozitivní kontrola DR0122M musí vykazovat aglutinaci se vysušeným testovacím činidlem do 1 minuty.

Negativní kontrola DR0123M nesmí během 1 minuty aglutinaci vykazovat.

Pokud reakce s kontrolními činidly nejsou správné, test nepoužívejte.

7. DŮLEŽITÉ POZNÁMKY K POSTUPU

Nedotýkejte se kroužků na reakčních kartách, protože by mohlo dojít ke kontaminaci a tím k ovlivnění reakce.

V prostředí s vysokou vlhkostí nenechávejte pytlíky otevřené déle než 2 minuty. Pokud se na kolečkách objeví stopy vlhkosti, tyčinky nepoužívejte.

Kapku fyziologického roztoku nedávejte přímo na suchá latexová kolečka.

Klipy na pytlíky by měly být ponechány pro budoucí použití, aby bylo možné otevřít více balení. Přestože jsou souprava či pytlíky vhodné pro skladování při pokojové teplotě, nesmějí být skladovány v blízkosti zdrojů tepla. Neměly by být skladovány na místech, kde by vystavení slunečnímu záření mohlo způsobit zvýšení teploty.

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

Pozitivní kontrola musí vyvolat viditelnou aglutinaci s latexovým činidlem do 1 minuty.

Negativní kontrola nesmí vyvolat aglutinaci během 1 minuty.

Pokud reakce s kontrolními suspenzemi nejsou správné, test nepoužívejte.

8. MATERIÁL PRO KULTIVACI

Kolonie nefermentující sorbitol (NSF) mohou být odebrány ze sorbitol MacConkeyova agaru nebo sorbitol MacConkeyova agaru s doplňkem v podobě teluričitanového cefiximu.

Alternativně lze izoláty NSF pro testování naočkovat na neselektivní média, jako je živný agar. 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 zajišťuje, že izolát není autoaglutinačním kmenem.

9. ZKUŠEBNÍ METODA

- Přidejte 1 kapku (50 µl) fyziologického roztoku (0,9 %) do malého kroužku (ve spodní části každého oválu) v testovací i kontrolní reakční oblasti, přičemž dbejte na to, aby se kapalina nasmíchala s vysušenými latexovými činidly.
- Pomocí sterilní kličky (nebo jedné z přiložených lopatek) odeberte část podezřelé kolonie z destičky s kultivačním médiem a opatrně ji v kapce fyziologického roztoku emulgujte. Zajistěte, aby výsledná suspenze byla hladká.
- Pomocí přiložené lopatky vmíchejte suspenzi do suchých latexových koleček, dokud není zcela suspendována, a rozetřete ji tak, aby pokryla reakční oblast. Lopatku s kličkou příslušným způsobem zlikvidujte.
- S použitím samostatné kličky nebo lopatky pokračujte stejným způsobem s kontrolním latexem.
- Zvedněte kartu, kývejte s ní až 60 sekund a hledejte známky aglutinace za normálních světelných podmínek. Nepoužívejte lupu.
- Po dokončení testu zlikvidujte reakční karty bezpečně do dezinfekčního prostředku.

10. ODEČÍTÁNÍ A INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Pozitivní výsledek

Výsledek je pozitivní, pokud dojde k aglutinaci latexových částic do 1 minuty.

To ukazuje na přítomnost *E. coli* séroskupiny O157.

Negativní výsledek

Negativní výsledek se získá, pokud k aglutinaci nedojde a v testovací oblasti zůstane po 60 sekundách hladká modrá suspenze.

Reakce, které se objeví po 60 sekundách, by měly být ignorovány.

Neinterpretovatelný výsledek

Test není interpretovatelný, pokud kontrolní činidlo vykazuje aglutinaci. To naznačuje, že kultura způsobuje autoaglutinaci.

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.

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

11. OMEZENÍ TESTU

Dodané míchací lopatky nejsou sterilní. V případě potřeby je lze sterilizovat na místě.

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.

Kmeny *Escherichia hermanii* reagují zkříženě se séry *E. coli* O157 a latexovým testem v důsledku společného antigenu.¹

Kromě toho byly identifikovány další bakteriální kmeny s epitopy, které napodobují epitopy lipopolysacharidu *E. coli* O157.¹⁰

E. hermanii lze od *E. coli* odlišit podle toho, že první uvedená bakterie vykazuje fermentaci růstu celobiózy v přítomnosti kyanidu draselného (KCN), negativní reakci při analýze se 4-metylmethylferon-glukuronidem (MUG) a žlutou pigmentaci, která může být opožděná.¹¹

12. CHARAKTERISTIKY FUNKČNOSTI

Funkčnost soupravy DrySpot *E. coli* O157 byla hodnocena v jedné klinické mikrobiologické laboratoři ve Velké Británii. Pomocí této soupravy a dvou dalších komerčně dostupných latexových testů byly testovány dříve charakterizované kmeny *E. coli* O157 a další enterobakterie nefermentující sorbitol.

Citlivost soupravy DrySpot *E. coli* O157 byla vypočtena jako 98,3 %.

Specifičnost soupravy DrySpot *E. coli* O157 byla vypočtena jako 100 %.

Výsledky hodnocení jsou shrnuty níže:

Organismus	Celkový počet testovaných	Výsledek testu DrySpot <i>E. coli</i> O157	
		Pozitivní	Negativní
<i>E. coli</i> O157	60	59	1*
Ostatní enterobakterie nefermentující sorbitol	30	0	30

*Byla zaznamenána falešně negativní reakce pro *E. coli* O157:H9 (VT-), která poskytla negativní výsledek u všech testovaných latexových souprav.

13. REFERENCE

1. Borczyk, A., Lior, H. and Ciebin, B. (1987). False positive identifications of *Escherichia coli* O157 in foods. Int. J. Food Microbiol. 4, 347–349.
2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric, S. (1977). Vero Response to a Cytotoxin of *Escherichia coli*. Vero Infect. Immun. 18, 775–779.
3. Scotland, S., Day, N. and Rowe, B. (1980). Production of a Cytotoxin Affecting Vero Cells by strains of *Escherichia coli* belonging to Traditional Enteropathogenic Serogroups. FEMS Microbiol. Lett. 7, 15–17.
4. Centers for Disease Control. (1982). Isolation of *E. coli* O157:H7 from Sporadic Cases of Hemorrhagic colitis United States. Morbid. Mortal. Wkly 31, 580–585.
5. Karmali, M., Still, B. et al. (1983). Sporadic cases of Haemolytic-Uraemic Syndrome Associated with Faecal Cytotoxin and Cytotoxin-Producing *Escherichia coli* in stools. Lancet i, 619–620.
6. Johnson, W., Lior, H. and Bezanson, G. S. (1983). Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Haemorrhagic colitis in Canada. Lancet i, 76.
7. March, S. and Ratnam (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. J. Clin. Microbiol. 23, 869–872.
8. Krishnan, C., Fitzgerald, et al. (1987). Laboratory Investigation of Outbreak of Haemorrhagic Colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. J. Clin. Microbiol. 25, 1043–1047.

9. Chapman, P. A. (1989). Evaluation of Commercial Latex Slide test for Identifying *Escherichia coli* O157. J. Clin. Pathol. 42, 1109–1110.
10. Westerman, R. B., Yongsheng, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of *Escherichia coli* O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679–684.
11. Brenner et al. (1982) Atypical biogroups of *Escherichia coli* found in clinical specimens and description of *Escherichia hermannii* sp. nov Journal of Clinical Microbiology sv. 15 č.4 str.703

14. LEGENDA K SYMBOLŮM

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



IFU X5326D, revidováno v říjnu 2021

Vytištěno ve
Spojeném království

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



Võtmekood TSMX5326D
www.oxid.com/ifu

Euroopa 00800 135 79 135 USA 1 855 2360 910
Kanada 1 855 805 8539 Muud riigid +31 20 794 7071

DrySpot E.coli O157 Latex Test

REF DR0120M..... ▽ 120

1. SIHTOTSTARVE

See on kvalitatiivne alusklaasi lateksaglutinatsiooni analüüs agaril kasvatatavate *E. coli* serorühma O157 isolaatide kinnitavaks tuvastamiseks. Seadet 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. ANALÜÜSI PÕHIMÖTE

Enterohemorraagiline *Escherichia coli* kuulub mitmesse O-serorühma, millest O157 on inimhaigustes kõige valdavam.

Verotsütotoksiini (VT) tootmise võimalusega tüvesid seostatakse mitmesuguste sümptomitega haigustes veritsuseta kõhulahtisusest, palavikust ja oksendamisest kuni hemorraagilise koliidi (HC) ja hemolüütilis-ureemilise sündroomini (HUS).^{1,2,3,4,5,6,7,8}

Lakteksanalüüs DrySpot *E. coli* O157 toob alusklaasi aglutinatsiooni teel välja *E. coli* tüved, millel on O157-serorühma antigeen. Testi on kõige parem kasutada materjalidega Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM0813) või Sorbitol MacConkey Agar koos lisandiga Cefixime Tellurite Supplement (SR0172).

Enamik *E. coli* tüvedest O157:H7 ei käärita sorbitooli ja tekitavad seega selles söötmes värvituid kolooniaid. Enamik *E. coli* isolaate, mis pole O157, kääritavad sorbitooli ja tekitavad iseloomulikke roosasid 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.

Verotoksiini tootmise saab kindlaks teha komplekti Oxoid VTEC-RPLA abil (TD960A).

3. KOMPLEKTI OSAD (DR0120M)

DR0121M Analüüsireaktiivikaardid DrySpot E. coli O157
See on suspensioon sünteetilistest sinistest lateksiosakestest, mis on kaetud antikehadega, mis reageerivad spetsiifiliselt *E. coli* O157-serorühma antigeeniga (analüüsi reaktsioonipiirkond). See on suspensioon sünteetilisest sinisest lateksist, mis on kaetud küllikli immuniseerimiselsete globuliinidega (kontrollreaktsioonipiirkond). Neli pauna, millest igaühes on 10 kaarti ja niiskust imav kotike. Igal kaardil on kolm analüüsi- ja kolm kontrollipiirkonda: kokku 120 analüüsi.

DR0122M Positiivse kontrolli ribad (10 pulka – roosad täpid)
Roosaks värvitud inaktiveeritud *E. coli* O157 antigeenne ekstrakt.

DR0123M Negatiivse kontrolli ribad (10 pulka – rohelised täpid)
Roheliseks värvitud inaktiveeritud *E. coli* O116 antigeenne ekstrakt.

Segamislabor (2 kotti)
Paunaklambrid (2)
Kasutusjuhend

Vajalikud materjalid, mida kaasas pole
Soolalahus (0,9% NaCl, mis on valmistatud destilleeritud või deioniseeritud veega)
Mikrobioloogiline silmus ja Bunseni põleti
Asjakohane labori desinfektsioonivahend

Taimer

4. ETTEVAATUSABINÕUD

IVD

Toode on ainult *in vitro* diagnostikas kasutamiseks.
Proovimaterjalid võivad sisaldada patogeenseid organisme. Käige nendega ümber asjakohase ettevaatusega.

Ainult ametialaseks kasutuseks.

Tõrke korral ärge kasutage seadet.

Uurige materjali ohutuskarti (MSDS), mis on saadaval ThermoFisher 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.

5. SÄILITAMINE JA AVAMINE



Komplekti tuleb säilitada temperatuuril 2 °C kuni 25 °C. Külmas keskkonnas

säilitamisel laske paunadel enne avamist toatemperatuurini jõuda, et vältida niiskuse kondenseerumist kaartidele. Kuivad reaktiivid riknevad ja annavad valesid tulemusi, kui neil lastakse niiskust imada.

Paunade avamiseks lõigake need kääridega lahti vahetult pitseri alt.

Kui paunad on avatud, eemaldage vahetult (10 min jooksul) analüüsimiseks vajaminev arv kaarte ja klammerdage pauna uuestisulgemiseks kohe koti avatud serv plastklambrid kahe poole vahel.

Kui vaja läheb vähem analüüse, lõigake reaktsioonikaardid mõõda näidatud jooni ja pange kasutamata osad tagasi pauna. Ärge pange tagasi kasutatud osi, kuna need saastavad pauna allesjäänud kaarte.

Niiskuskindlas paunas on kaasas ka kontrollpulgad. Niiskuskahjustuste vältimiseks veenduge, et kasutatakse samu tehnikaid.

Nendes tingimustes säilib reaktiivide aktiivsus komplekti karbil toodud kõlblikkusajani.

6. KONTROLLPROTSEDUURID

Kaasasolevate kuivanud kontrollpulkade abil tuleb iga päev enne rutiinseid analüüse järgmisel viisil lateksreaktiivi õiget toimimist kontrollida.

Lisage 50 µl soolalahust väiksesse ringi analüüsi ovaalse reaktsioonipiirkonna põhjas. Rebige positiivse kontrollkaardi pulga eemaldamiseks paunast üks pulk teiste ribal olevate küljest ära, vältige hoolikalt painduva otsa puudutamist seal, kus asuvad kuivad täpid. Sulgege sisemine kott ja paun uuesti. Keerake pulk ümber, nii et värvilised täpid jääksid allapoole, ja paigutage pulk kaardile koos vedelikku sisaldavate täppidega. Lükake allapoole, nii et ots paindub liitekohast, ja segage ringikujuliselt 10 sekundit kuivanud reaktiivi uuestihüdreerimiseks. Jätka vedeliku pulgaga segamist analüüsireaktiivi DrySpot O157, kuni kõik reaktiivid on täielikult uuesti hüdreeritud ja homogeensed. Raputage kaarti ja otsige aglutinatsiooni. Protseduuri tuleb korrata negatiivse kontrolli pulga abil.

Positiivne kontrollmaterjal DR0122M peab ilmutama aglutinatsiooni kuivanud analüüsireaktiiviga ühe minuti jooksul.

Negatiivne kontrollmaterjal DR0123M peab ilmutama aglutinatsiooni ühe minuti jooksul.

Ärge kasutage analüüsi, kui reaktsioonid kontrollreaktiividega pole korrektsed.

7. OLULISED PROTSEDUURIMÄRKUSED

Ärge puudutage reaktsioonikaartide ringe, kuna see võib tekitada saastumist ja nõnda reaktsiooni mõjutada.

Ärge hoidke väga niiskes keskkonnas paunu avatuna kauem kui kaks minutit. Kui täppides on märke niiskusest, ärge neid kasutage.

Ärge viige soolalahuse tilka otse kuivadele latekstäppidele.

Paunaklambrid tuleb edasiseks kasutuseks alles hoida, et avada saaks mitut pakki. Kuigi komplekt ja paunad sobivad toatemperatuuril säilitamiseks, ei tohi neid hoida kuumasallikate lähedal. Neid ei tohi hoida seal, kus kokkupuutel päikesevalgusega võib temperatuur tõusta.

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

Positiivne kontrollmaterjal peab tekitama nähtavat aglutinatsiooni lateksreaktiiviga ühe minuti jooksul.

Negatiivne kontrollmaterjal ei tohi tekitada ühe minuti jooksul aglutinatsiooni.

Ärge kasutage analüüsi, kui reaktsioonid kontrollsuspensioonidega pole korrektsed.

8. KULTUURI MATERJAL

Sorbitooli mitteääritavad (NSF) kolooniad saab võtta söötmest Sorbitol MacConkey Agar või söötmest Sorbitol MacConkey Agar lisandiga Cefixime Tellurite Supplement.

Teine võimalus on inokuleerida NSF-i isolaadid analüüsimiseks mitteselektiivsesse söötmesse, nagu toitainear. 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 kasutamiseks tagatakse, et isolaat pole iseaglutineeruv tüvi.

9. ANALÜÜSIMEETOD

1. Lisage 1 tilk (50 µl) soolalahust (0,9%) väiksesse ringi (iga ovaali põhjas) nii analüüsi kui ka kontrolli reaktsioonipiirkonnas veendumaks, et vedelik ei seguneks kuivanud lateksreaktiividega.

2. Võtke steriilse silmuse (või ühe kaasasoleva laba) abil kahtlusaluse koloonia osa kasvusöötme plaadilt ja emulgeerige see hoolikalt soolalahuse tilgas. Veenduge, et saadud suspensioon oleks ühtlane.

3. Segage kaasasoleva laba abil suspensioon kuiva lateksi täppidesse, kuni see on täielikult suspendeerunud, ja ajage see laiali, et see kataks reaktsioonipiirkonna. Kõrvaldage silmuselaba asjakohasel viisil.

4. Tehke eraldi silmuse või laba abil sama materjaliga Control Latex.

5. Võtke kaart ja raputage seda kuni 60 sekundit ning otsige tavalise valguse käes aglutinatsiooni. Ärge kasutage suurendusklaasi.

6. Kui analüüs on valmis, kõrvaldage reaktsioonikaardid ohutult desinfektsioonivahendisse.

10. TULEMUSTE LUGEMINE JA TÕLGENDAMINE

Positiivne tulemus

Tulemus on positiivne, kui lateksiosakesed aglutineeruvad ühe minuti jooksul.

See näitab *E. coli* serorühma O157 olemasolu.

Negatiivne tulemus

Negatiivne tulemus saadakse siis, kui esineb aglutinatsioon ja 60 sekundi järel jääb analüüsipiirkonda sinine suspensioon.

Pärast 60 sekundi möödumist esinevaid reaktsioone tuleb ignoreerida.

Tõlgendamatu tulemus

Analüüs on tõlgendamatu, kui kontrollreaktiiv ilmutab aglutinatsiooni. See näitab, et kultuur tekitab aglutinatsiooni.

Granulaarsed või kiulised reaktsioonid

Aeg-ajalt võivad analüüsimaterjali osakeste omaduste tõttu ilmned granulaarsed või kiulised reaktsioonid. Taoliste reaktsioonide ilmlemisel 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 selginemine analüüsi- ja kontrollreaktiivi kasutamisel oluliselt ei erine.

Kui korraliku hinnangu andmiseks ilmneb liigne kiulus, tuleb 0,3 ml soolalahuse suspendeerida teine koloonia. Laske klompidel lõhustuda ja tehke analüüs uuesti ühtlase supernatandiga.

11. ANALÜÜSI PIIRANGUD

Kaasasolevad segamislaborid pole steriilsed. Vajaduse korral saab need kohapeal steriliseerida.

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

Ei Sorbitol MacConkey Agar ega *E. coli* O157 lateksanalüüs ei kinnita otseselt, et isolaat on toksiine tootev tüvi. Leitud on ka muid verotsütotoksiini tootvaid serotüüpe.

Escherichia hermanii tüved ristreageerivad *E. coli* O157 serotüüpidega ja lateksanalüüsiga ühisest antigeenist tulenevalt.¹

Lisaks on tuvastatud muid bakteriaalseid tüvesid, mille epitoobid matkivad *E. coli* O157 lipopolüsahhariidi omi.¹⁰

E. hermanii on *E. coli* st eristatav, kuna kääratab tsellobioosi kasvu kaaliuimsüanidi (KCN) juuresolekul, negatiivne reaktsioon 4-metüüllumbelliferoonglükuronidi (MUG) analüüsiga ja kollane pigmentatsioon, mida saab viivitada.¹¹

12. TOIMIVUSNÄITAJAD

Komplekti DrySpot *E. coli* O157 toimivust hinnati ühes kliinilise mikrobioloogia laboris Suurbritannias. Varem iseloomustatud *E. coli* O157 tüvesid ja muid sorbitooli mittekääritavaid enterobaktereid analüüsiti selle komplektiga ja kahe muu kaubanduslikult kättesaadava lateksanalüüsiga.

Komplekti DrySpot *E. coli* O157 tundlikkuseks saadi 98,3%.

Komplekti DrySpot *E. coli* O157 spetsiifilisuseks saadi 100%.

Järgnevalt võetakse kokku hindamistulemused.

Organism	Analüüse kokku	DrySpot <i>E. coli</i> O157 analüüsitulemus	
		Positiivne	Negatiivne
<i>E. coli</i> O157	60	59	1*
Muud sorbitooli mittekääritavad enterobakterid	30	0	30

* Registreeriti valenegatiivne reaktsioon ühe *E. coli* O157:H9-ga (VT-), mis andis negatiivse tulemuse kõigi katsetatud latekskomplektidega.

13. VIITED

- Borczyk, A., Lior, H. ja Ciebin, B. (1987). False positive identifications of *Escherichia coli* O157 in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 4, 347–349.
- Konowalchuk, J., Speirs, J. ja Stavric, S. (1977). Vero Response to a Cytotoxin of *Escherichia coli*. *Vero Infect. Immun.* 18, 775–779.
- Scotland, S., Day, N. ja Rowe, B. (1980). Production of a Cytotoxin Affecting Vero Cells by strains of *Escherichia coli* belonging to Traditional Enteropathogenic Serogroups. *FEMS Microbiol. Lett.* 7, 15–17.
- Centers for Disease Control. (1982). Isolation of *E. coli* O157:H7 from Sporadic Cases of Hemorrhagic colitis United States. *Morbid. Mortal. Wkly* 31, 580–585.
- Karmali, M., Still, B. et al. (1983). Sporadic cases of Haemolytic-Uraemic Syndrome Associated with Faecal Cytotoxin and Cytotoxin-Producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet* i, 619–620.
- Johnson, W., Lior, H. ja Bezanson, G. S. (1983). Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Haemorrhagic colitis in Canada. *Lancet* i, 76.
- March, S. ja Ratnam (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. *J. Clin. Microbiol.* 23, 869–872.
- Krishnan, C., Fitzgerald, et al. (1987). Laboratory Investigation of Outbreak of Haemorrhagic Colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. *J. Clin. Microbiol.* 25, 1043–1047.
- Chapman, P. A. (1989). Evaluation of Commercial Latex Slide test for Identifying *Escherichia coli* O157. *J. Clin. Pathol.* 42, 1109–1110.
- Westerman, R. B., Yongsheng, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of *Escherichia coli* O157. *J. Clin. Microbiol.* 35, 679–684.
- Brenner et al. (1982) Atypical biogroups of *Escherichia coli* found in clinical specimens and description of *Escherichia hermannii* sp. nov *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 15 No.4, lk 703

14. SÜMBOLITE SELETUS

	Katalooginumber
	<i>In vitro</i> diagnostiline meditsiiniseade
	Tutvuge kasutusjuhendiga
	Temperatuuripiirangud (ladustustemperatuur)
	Sisaldab piisavat kogust <N> analüüsi jaoks
	Partiikood
	Aegumiskuupäev
	Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses
	Tootja



IFU X5326D, revideeritud

oktoobris 2021



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

Trükitud Ühendkuningriigis



Avainkoodi TSMX5326D
www.oxid.com/ifu

Eurooppa 00800 135 79 135 USA +1 855 2360 910
Kanada +1 855 805 8539 Muu maailma +31 20 794 7071

DrySpot E.coli O157 -lateksitesti

REF DR0120M..... 120

1. KÄYTTÖTARKOITUS

Kvalitatiivinen lateksialuslevyagglutinaatiotesti agarilla kasvatettujen *E. coli*n seroryhmän O157 isolaattien vahvistettuun tunnistukseen. Laitetta käytetään diagnostisessa työnsäilyssä auttamaan terveydenhoitohenkilökuntaa hoitovaihtoehtoisissa potilaille, joilla epäillään bakteeritartuntaa. Laitte ei ole automaattinen, se on tarkoitettu vain ammattilaiskäyttöön eikä se ole kumppanidiagnostiikkaa.

2. TESTIN PERIAATE

Enterohemorragisia *Escherichia coli* -bakteereita on lukuisia O-seroryhmiä, joista O157 on merkittävin ihmisten sairauksissa.

Mahdollisesti verosytotoksiinia (VT) tuottavat kannat liittyvät lukuisiin oireisiin aina ei-verisestä ripulista, kuumeesta ja oksentelusta hemorragisen koliitin (HC) ja hemolyyttis-ureemisen oireyhtymän (HUS) tapauksiin.

DrySpot *E. coli* O157 -lateksitesti osoittaa aluslevyagglutinaatiolla *E. coli* -kannat, joissa on O157-seroryhmän antigeeni. Testiä on paras käyttää yhdessä MacConkey-sorbitoliagarin (Oxoid CM0813) tai kefiiksiimitelluriittisillä käsitellyn MacConkey-sorbitoliagarin (SR0172) kanssa.

E. coli O157:H7 -kannoista suurin osa ei fermentoi sorbitolia ja tuottaa siksi värittömiä pesäkkeitä tässä kasvualustassa. Suurin osa ei-O157 *E. coli* -isolaateista fermentoi sorbitolia ja tuottaa tunnusmerkillisiä vaaleanpunaisia pesäkkeitä.

MacConkey-sorbitoliagarina 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.

Verotoksiinin tuotannon voi vahvistaa Oxoid VTEC-RPLA -sarjalla (TD960A).

3. SARJAN KOMPONENTIT (DR0120M)

DR0121M DrySpot E. coli O157 -testin reagenssikortit
Suspensio syntetettisiä sinisiä lateksihiuksia, jotka on päällystetty vasta-aineella, joka reagoi spesifisesti *E. coli* O157 -seroryhmän antigeenin kanssa (testireaktion alue). Suspensio syntetettisiä sinisiä lateksihiuksia, jotka on päällystetty kaniinien esi-immunoglobuliineilla (kontrollireaktion alue). Neljä pussia, jossa kussakin on 10 korttia ja kosteutta imevä pussukka. Kussakin kortissa on kolme testi- ja kolme kontrollireaktioaluetta. Testejä on yhteensä 120.

DR0122M Positiiviset kontrolliliuskat (10 näytetikkaa – vaaleanpunaiset täplät)
Vaaleanpunaiseksi värjätty inaktivoitu antigeeniuute *E. coli* O157:ää.

DR0123M Negatiiviset kontrolliliuskat (10 näytetikkaa – vihreät täplät)
Vihreäksi värjätty inaktivoitu antigeeniuute *E. coli* O116:ta.

Sekoitusauvat (2 pussia)

Pussin sulkimet (2)

Käyttöohjeet (IFU)

Tarvittavat materiaalit, jotka eivät tule pakkauksen mukana

Keittosuola (0,9-prosenttinen natriumkloridi valmistettuna tislattuun tai deionisoituun veteen)

Mikrobiologinen silmukka ja bunsenlamppu

Sopivaa laboratorion desinfointiainetta

Ajastin

4. VAROTOIMET

IVD

Tämä tuote on tarkoitettu vain *in vitro* -diagnostiseen käyttöön. Näyttemateriaalit voivat sisältää patogeenisiä organismeja. Käsiteltävä asianmukaisin varotoimin.

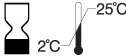
Vain ammattilaiskäyttöön.

Toimintahäiriön sattuessa laitetta ei saa käyttää.

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

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

5. SÄILYTYS JA AVAUS



Tätä sarjaa on säilytettävä lämpötilassa 2–25 °C. Jos sarjaa säilytetään kylmässä

ympäristössä, pussien on annettava tasaantua huoneenlämpöiseksi ennen avaamista, jotta kortteihin ei tiivisty kosteutta. Kuivat reagenssit pilaantuvat ja antavat virheellisiä tuloksia, jos niiden annetaan imeä kosteutta.

Pussit voi avata leikkaamalla saksilla aivan sulkukohdan alapuolelta.

Kun pussi on avattu, ota välittömästi (seuraavan 10 minuutin aikana tapahtuvassa) testauksessa tarvittava määrä kortteja ja sulje pussi välittömästi puristamalla pussin avoin pää muovisulkimen kahden puoliskon väliin.

Jos tarvitaan vähemmän testejä, leikkaa reaktiokortit osoitettuja linjoja pitkin ja palauta käyttämättömät osat pussiin. Älä palauta käytettyjä osia pussiin, koska ne kontaminoivat pussissa jäljellä olevat kortit.

Myös kontrollitikut toimitetaan kosteutta läpäisemättömässä pussissa. Varmista, että käytät samoja tekniikoita kosteusvaurioiden estämiseksi.

Näissä olosuhteissa reagenssien aktiivisuus säilyy sarjan kotelossa ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään asti.

6. KONTROLLITOIMENPITEET

Lateksireagenssin oikeanlainen toiminta on tarkistettava kuivattujen kontrollitikkujen avulla joka päivä ennen rutiininomaisten testien tekemistä.

Lisää 50 µl:n tippa keittosuolaa pieneen ympyrään testin soikean reaktioalueen pohjalle. Poista positiivisen kontrollikortin tikku pussista repäisemällä yksi irti muista liuskasta. Varo koskemasta joustavaan päähän, missä kuivat täplät ovat. Sulje sisäpussi ja pussi uudelleen. Käännä tikku ympäri niin, että värilliset täplät ovat pohjalla, ja aseta tikku kortille niin, että täplät koskevat nesteeseen. Paina alaspäin niin, että pää taipuu saranasta, ja sekoita pyörittämällä liikkeellä 10 sekunnin ajan, jotta kuivattu reagenssi kostuu uudelleen. Jatka nesteen sekoittamista tikulla DrySpot O157 -testireagenssiin, kunnes kaikki reagenssit ovat täysin kostuneet uudelleen ja homogeenisiä. Keinuta korttia ja etsi agglutinaatiota. Tämä toimenpide on toistettava käyttäen negatiivista kontrollitikkua.

Positiivisessa kontrollissa DR0122M on näyttävä agglutinaatiota kuivaan testireagenssiin 1 minuutin sisällä.

Negatiivisessa kontrollissa DR0123M ei saa näkyä agglutinaatiota 1 minuutin sisällä.

Älä käytä testiä, jos reaktiot kontrollireagenssien kanssa ovat virheellisiä.

7. TÄRKEITÄ HUOMAUTUKSIA TOIMENPITEESTÄ

Älä koske reaktiokorttien ympyröihin, koska se voi aiheuttaa kontaminaatiota ja siten vaikuttaa reaktioon.

Hyvin kosteassa ympäristössä älä jätä pusseja auki yli 2 minuutin ajaksi. Mikäli täplissä näkyy merkkejä kosteudesta, älä käytä ortteja.

Älä lisää keittosuolatippaa suoraan kuiville lateksitäplille.

Pussin sulkimet on säilytettävä tulevaa käyttöä varten, jotta niiden avulla voidaan avata useita pakkauksia. Vaikka sarjaa tai pusseja voi säilyttää huoneenlämmössä, niitä ei saa säilyttää lämmönlähteiden lähellä. Niitä ei saa säilyttää paikassa, jossa altistus auringonvalolle voi aiheuttaa lämpötilan nousumista.

Lateksireagenssien oikeanlainen toiminta on tarkistettava mukana toimitettujen kontrollien avulla joka päivä ennen rutiininomaisten testien tekemistä.

Positiivisen kontrollin on aiheutettava näkyvää agglutinaatiota lateksireagenssissa 1 minuutin sisällä.

Negatiivinen kontrolli ei saa aiheuttaa agglutinaatiota 1 minuutin sisällä.

Älä käytä testiä, jos reaktiot kontrollisuspensioiden kanssa ovat virheellisiä.

8. VIJELYMATERIAALI

Ei-sorbitolia fermentoivia (NSF) pesäkkeitä voi ottaa MacConkey-sorbitoliagarista tai kefiiksiimitelluriittisillä käsitellystä MacConkey-sorbitoliagarista.

Vaihtoehtoisesti NSF-isolaatteja voidaan inokuloida ei-selektiiviseen kasvualustaan, kuten ravintoaineagarin, testautta 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. coli*n kanssa. Kontrollilateksin käyttö varmistaa, että isolaatti ei ole autoagglutinoiva kanta.

9. TESTIMENETELMÄ

- Lisää 1 tippa (50 µl) keittosuolaa (0,9 %) pieneen ympyrään (kunkin soikion pohjalla) sekä testi- että kontrollireaktioalueella varmistaen, että neste ei sekoitu kuivattuihin lateksireagensseihin.
- Käytä steriiliä silmukkaa (tai yhtä mukana tulevasta sauvoista) poimimaan osa epäilystä pesäkkeestä viljelyalustalevyiltä ja emulgoi se varovasti keittosuolatippaan. Tarkista, että saatu suspensio on tasainen.
- Sekoita suspensio kuiviin lateksitäpliin mukana tulevalla sauvalla, kunnes sekoittuminen on täydellistä, ja levitä suspensio peittämään reaktioalue. Hävitä silmukka/sauva asianmukaisesti.
- Käytä eri silmukkaa tai sauvaa ja jatka samaan tapaan kontrollilateksilla.
- Poimi kortti ja keinuta sitä enintään 60 sekuntia ja etsi agglutinaatiota normaaleissa valaistusolosuhteissa. Älä käytä suurennuslasia.
- Kun testi on valmis, hävitä reaktiokortit turvallisesti desinfointiaineeseen.

10. TULOSTEN LUKEMINEN JA TULKITSEMINEN

Positiivinen tulos

Tulos on positiivinen, jos lateksihiuksasten agglutinaatio tapahtuu 1 minuutin sisällä.

Tämä osoittaa *E. coli* -seroryhmän O157 läsnäolon.

Negatiivinen tulos

Negatiivinen tulos saadaan, jos agglutinaatiota ei tapahdu ja testialueella säilyy tasainen sininen suspensio 60 sekunnin jälkeen.

60 sekunnin jälkeen tapahtuvat reaktiot on jätettävä huomiotta.

Ei-tulkittavissa oleva tulos

Testi ei ole tulkittavissa, jos kontrollireagenssissa näkyy agglutinaatiota. Tämä osoittaa, että viljely aiheuttaa autoagglutinaatiota.

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.

Jos lankamaisuus katsotaan liian voimakkaaksi, että voitaisiin tehdä oikeanlainen päätös, silloin on suspendoitava toinen pesäke 0,3 ml:aan keittosuolaa. Anna paakkujen asettua ja testaa tämä tasainen supernatantti uudelleen.

11. TESTIN RAJOITUKSET

Mukana tulevat sekoitusauvat eivät ole steriilejä. Nämä voidaan steriloida tarvittaessa paikallisesti.

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

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

Muita serotyyppejä on löydetty, jotka tuottavat verosytotoksiinia.

Escherichia hermannii -kannat reagoivat *E. coli* O157 -seerumien ja lateksitestin kanssa yhteisen antigeenin takia.¹

Lisäksi on tunnistettu muita bakteerikantoja, joiden epitoopit muistuttavat *E. coli* O157 -lipopolysakkaridin epitooppeja.¹⁰

E. hermannii voidaan erottaa *E. colista* siitä, että edellinen fermentoi sellobioosikasvua kaliumsyaniidin (KCN) läsnä ollessa, tuottamalla negatiivisen reaktion 4-metyyliumbelliferoniglukuronidimäärityksessä (MUG) sekä tuottamalla keltaista pigmenttiä, mikä voi olla viivästynyt.¹¹

12. SUORITUSKYKYMINAISUUDET

DrySpot *E. coli* O157 -sarjan suorituskykyä arvioitiin yhdessä kliinisen mikrobiologian laboratoriossa Isossa-Britanniassa. Aiemmin luokiteltuja *E. coli* O157 -kantoja ja muita ei-sorbitolia fermentoivia enterobakteereja testattiin tällä sarjalla ja kahdella muulla kaupallisesti saatavilla olevalla lateksitestillä.

DrySpot *E. coli* O157 sarjan herkkyyden laskettiin olevan 98,3 %. DrySpot *E. coli* O157 sarjan spesifisyyden laskettiin olevan 100 %. Näiden arviointien tulosten yhteenveto on esitetty seuraavassa:

Organismi	Testejä yhteensä	DrySpot <i>E. coli</i> O157 -testitulokset	
		Positiivinen	Negatiivinen
<i>E. coli</i> O157	60	59	1*
Muut ei-sorbitolia fermentoivat enterobakteerit	30	0	30

* Virheellinen negatiivinen reaktio kirjattiin *E. coli* O157:H9 (VT-):stä, joka tuotti negatiivisen tuloksen kaikilla testatuilla lateksisarjoilla.

13. VIITTEET

1. Borczyk, A., Lior, H. and Ciebin, B. (1987). False positive identifications of *Escherichia coli* O157 in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 4, 347–349.

2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric, S. (1977). Vero Response to a Cytotoxin of *Escherichia coli*. *Vero Infect. Immun.* 18, 775–779.

3. Scotland, S., Day, N. and Rowe, B. (1980). Production of a Cytotoxin Affecting Vero Cells by strains of *Escherichia coli* belonging to Traditional Enteropathogenic Serogroups. *FEMS Microbiol. Lett.* 7, 15–17.

4. Centers for Disease Control. (1982). Isolation of *E. coli* O157:H7 from Sporadic Cases of Hemorrhagic colitis United States. *Morbid. Mortal. Wkly* 31, 580–585.

5. Karmali, M., Still, B. et al. (1983). Sporadic cases of Haemolytic-Uraemic Syndrome Associated with Faecal Cytotoxin and Cytotoxin-Producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet* i, 619–620.

6. Johnson, W., Lior, H. and Bezanson, G. S. (1983). Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Haemorrhagic colitis in Canada. *Lancet* i, 76.

7. March, S. and Ratnam (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. *J. Clin. Microbiol.* 23, 869–872.

8. Krishnan, C., Fitzgerald, et al. (1987). Laboratory Investigation of Outbreak of Haemorrhagic Colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. *J. Clin. Microbiol.* 25, 1043–1047.

9. Chapman, P. A. (1989). Evaluation of Commercial Latex Slide test for Identifying *Escherichia coli* O157. *J. Clin. Pathol.* 42, 1109–1110.

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

11. Brenner et al. (1982) Atypical biogroups of *Escherichia coli* found in clinical specimens and description of *Escherichia hermannii* sp. nov *Journal of Clinical Microbiology* Vol. 15 No.4 p703

14. SYMBOLIEN SELITYS

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



IFU X5326D, Tarkistettu lokakuussa 2021

Painettu Isossa-Britanniassa

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



Kulcskód: TSMX5326D
www.oxid.com/ifu

Európa: 00800 135 79 135 Egyesült Államok: 1 855 2360 910
Kanada: 1 855 805 8539 A világ többi része: +31 20 794 7071

DrySpot E. coli O157 latex teszt

REF DR0120M..... 120

1. RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Kvalitatív latex tárgylemez-agglutinációs teszt az *E. coli* O157 szerocsoport agaron kitenyészett izolátumainak megerősítő azonosításához. Az eszköz diagnosztikai munkafolyamatban használatos, 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 ELVE

Az enterohemoragiás *Escherichia coli* több „O” szerocsoportba sorolható, amelyek közül a humán betegségeket tekintve az O157 a legjelentősebb.

A potenciálisan verocitotoxinokat (VT) termelő törzsek számos tünettel hozhatók kapcsolatba, a nem véres hasmenéstől, láztól és hányástól kezdve a vérzéses vastagbélgyulladás (hemoragiás kolitisz) át a hemolitikus urémiás szindrómáig (HUS).^{1,2,3,4,5,6,7,8}

A DrySpot *E. coli* O157 latex teszt tárgylemez-agglutinációval mutatja ki az O157 szerocsoport antigént tartalmazó *E. coli* törzseket. A tesztet MacConkey szorbit agar (Oxoid CM0813) vagy cefixim és tellurit tartalmú MacConkey szorbit agar (SR0172) táptalajjal együtt érdemes használni.

Az *E. coli* O157:H7 törzsek többsége nem fermentálja a szorbitot, ezért ezen a táptalajon szintelen telepeket képez. A nem O157 *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 szerocsoporthoz tartozik-e, és így módon potenciális VT-termelő törzsnek számít-e.

A verotoxin-termelés az Oxoid VTEC-RPLA készlettel (TD960A) erősíthető meg.

3. A KÉSZLET (DR0120M) ÖSSZETEVŐI

DR0121M DrySpot E. coli O157 tesztreagenskártyák
Az *E. coli* O157 szerocsoport antigénnel specifikusan reagáló antitesttel bevont kék szintetikus latexrészecskék szuszpenziója (vizsgálati reakcióterület). Nyúl preimmun imunglobulinokkal bevont kék szintetikus latexszuszpenzió (kontroll reakcióterület). Négy, egyenként 10 kártyát tartalmazó tasak és egy nedvszívó tasak. Az egyes kártyákon 3 vizsgálati és 3 kontroll reakcióterület található – ez összesen 120 tesztet jelent.

DR0122M Pozitív kontrollcsíkok (10 pálcá – rózsaszín foltok)
Rózsaszínre festett, inaktívált *E. coli* O157 antigénkivonat.

DR0123M Negatív kontrollcsíkok (10 pálcá – zöld foltok)
Zöldre festett, inaktívált *E. coli* O116 antigénkivonat.
Keverőlapát (2 zacskó)
Tasakzáró csipesz (2)
Használati útmutató (IFU)

Szükséges, de rendelkezésre nem bocsátott anyagok

sóoldat (desztillált vagy ioncserélt vízzel készült, 0,9%-os NaCl oldat);
oltókacs és Bunzen-égő;
megfelelő laboratóriumi fertőtlenítőszer;
stopper.

4. ÓVINTÉZKEDÉSEK

IVD

Ez a termék kizárólag *in vitro* diagnosztikai célokra használható.
A vizsgálati minták patogén mikroorganizmusokat tartalmazhatnak. Megfelelő óvintézkedések mellett kezelendők.

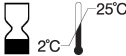
Kizárólag szakemberek általi használatra.

Ha az eszköz hibásan működik, ne használja.

A potenciálisan veszélyes összetevőkkel kapcsolatos információk a Thermo Fisher 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.

5. TÁROLÁS ÉS FELBONTÁS



A készlet 2–25 °C-on tárolandó. A hideg helyen tárolt tasakokat felnyitás előtt hagyja szobahőmérsékletre melegedni, hogy a kártyákra ne csapódjon le nedvesség. Ha a száraz reagensek nedvességet vesznek fel, tönkremennek, és hibás eredményeket adnak.

Olíval közvetlenül a forrasztás alatt elvágyva bontsa fel a tasakokat.

A felbontott tasakból annyi kártyát vegyen ki, amennyi az azonnal (10 percen belül) elvégzendő vizsgálathoz szükséges, majd a műanyag csipesszel zárja le a tasak nyitott végét.

Ha kevesebb vizsgálatra van szükség, a vonaljelölés mentén vágja el a reakciókártyákat, és tegye vissza a zacskóba a nem használt adagokat. A használt adagokat ne tegye vissza a zacskóba, mivel szennyezhetik a zacskóban maradt kártyákat.

A kontrollt tartalmazó pálcák szintén vízhatlan tasakban vannak elhelyezve. A nedvesség okozta károsodás elkerülése érdekében ezeknél is a fenti módszert kövesse.

Ilyen körülmények között a reagensek a készlet dobozán feltüntetett lejárati dátumig megőrzik reakcióképességüket.

6. ELLENŐRZÉSI ELJÁRÁSOK

A rutinvizsgálatok végrehajtása előtt a készletben található, szárított kontrollt tartalmazó pálcákkal a következő módon minden nap ellenőrizni kell a latexreagens megfelelő működését.

Cseppentsen 50 µl sóoldatot az ovális vizsgálati reakcióterület alján lévő kisméretű körre. A csíkon lévő pálcákból egyet letépve vegyen ki a zacskóból egy pozitívkontroll-kártyát tartalmazó pálcát; ügyeljen arra, hogy ne érjen hozzá a pálcá flexibilis végéhez, ahol

a száraz foltok vannak elhelyezve. Zárja vissza a belső zacskót és a tasakot. Fordítsa át a pálcát, hogy a színes foltok alul legyenek, majd helyezze a kártyán lévő pálcát a folyadékba úgy, hogy a foltok beleérjenek a folyadékba. Nyomja le a pálcát úgy, hogy a kártya szélénél lévő vége meghajoljon, és 10 másodpercig körkörös mozdulattal kevergetve rehidratálja a szárított reagenst. A pálcá segítségével folytassa a folyadék DrySpot O157 vizsgálati reagensbe keverését, amíg az összes vizsgálati reagens teljesen rehidratált és homogén nem lesz. Körkörösben mozgassa a kártyát, és figyelje, hogy van-e agglutináció. Az eljárást negatív kontrollt tartalmazó pálcával is meg kell ismételni.

A DR0122M pozitív kontrollnak 1 percen belül agglutinációt kell mutatnia a száraz vizsgálati reagenssel.

A DR0123M negatív kontroll 1 percen belül nem mutathat agglutinációt.

Ne használja a tesztet, ha a kontroll reagensekkel való reakciók nem megfelelőek.

7. ELJÁRÁSRA VONATKOZÓ FONTOS MEGJEGYZÉSEK

Ne érjen hozzá a reakciókártyákon lévő körökhöz, mivel az így bejutó esetleges szennyeződések befolyásolhatják a reakciókat.

Magas páratartalmú környezetben 2 percnél tovább ne hagyja nyitva a tasakokat. Ha a foltokon nedvességnymokat lát, ne használja a kártyát.

A sóoldatot ne közvetlenül a száraz latexfoltokra cseppentse.

Őrizze meg a tasakzáró csipeszeket, hogy később több tasakot is fel lehessen bontani egyszerre. A készlet és a tasakok szobahőmérsékleten tárolhatók, hőforrás közelébe azonban ne helyezze őket. Nem tárolhatók napfénynek kitett helyeken, ahol a napfény hőmérséklet-emelkedést okozhat.

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

A pozitív kontrollnak 1 percen belül látható agglutinációt kell kiváltania a latexreagenssel.

A negatív kontroll 1 percen belül nem okozhat agglutinációt.

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

8. KULTÚRÁK

Szorbitot nem fermentáló (NSF) telepek MacConkey szorbit agarról vagy cefixim és tellurit tartalmú MacConkey szorbit agarról nyerhetők.

Másik lehetőségként a vizsgálatához NSF-izolátumokat lehet leoltani nem szelektív táptalajokra, például tápagarra. Ahhoz, hogy nagy valószínűséggel detektálni lehessen az esetleg más szerotípusú NSF *E. coli* baktériumokkal kevert tenyésztetben 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.

9. VIZSGÁLATI MÓDSZER

- Cseppentsen 1 csepp (50 µl) sóoldatot (0,9%) mind a vizsgálati, mind a kontroll reakcióterületen lévő kis körre (az egyes ovális részek alá), ügyelve arra, hogy a folyadék ne keveredjen a száraz latexreagensekkel.
- Steril oltókacs (vagy a készletben található egyik lapát) segítségével vegyen ki egy részt a táptalajt tartalmazó lemezen lévő gyanús tejből, és óvatosan emulgeálja a sóoldatcseppben. Ügyeljen arra, hogy a képződő szuszpenzió sima, csomómentes legyen.

3. A készletben található lapáttal keverje bele a száraz latexfoltokba a szuszpenziót úgy, hogy teljesen szuszpendálódjon, majd oszlassa el úgy, hogy befedje a reakcióterületet. Gondoskodjon az oltókacs/lapát megfelelő hulladékkezeléséről.

4. Egy másik oltókacs vagy lapát segítségével a latex kontrollal is hajtsa végre a fenti lépéseket.

5. Vegye kézbe és legfeljebb 60 másodpercig körkörösben mozgassa a kártyát, közben normál fényviszonyok mellett figyelje az agglutinációt. Ne használjon nagyítót.

6. A vizsgálat befejezése után a biztonságos hulladékkezeléshez helyezze fertőtlenítőszerbe a reakciókártyákat.

10. AZ EREDMÉNYEK LEOLVASÁSA ÉS ÉRTELMEZÉSE

Pozitív eredmény

Ha 1 percen belül bekövetkezik a latexrészecskék agglutinációja, az eredmény pozitív.

A pozitív eredmény az *E. coli* O157 szerocsoport jelenlétére utal.

Negatív eredmény

Ha nem következik be agglutináció, és a vizsgálati területen 60 másodperc elteltével kék, csomómentes szuszpenzió látható, az eredmény negatív.

A 60 másodperc után fellépő reakciók figyelmen kívül hagyandók.

Nem értelmezhető eredmények

A vizsgálat nem értelmezhető, ha a kontroll reagens agglutinációt mutat. Ez azt jelenti, hogy a kultúra autoagglutinációt vált ki.

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.

Ha a szálasodás túl jelentős ahhoz, hogy megfelelő döntést lehessen hozni, 0,3 ml sóoldatban szuszpendálni kell egy másik telepet. Hagyja, hogy a darabos részek leülepedjenek, és a sima, csomómentes felüliszóval végezze el újra a vizsgálatot.

11. A TESZT KORLÁTAI

A készletben található keverőlapátok nem steriliek. Ezek szükség esetén helyben sterilizálhatók.

Ismeretlen fajokból álló telepen kapott pozitív eredmény esetében biokémiai tesztekkel 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.

Egy közös antigén miatt az *Escherichia hermanii* törzsek keresztreakcióba lépnek az *E. coli* O157 tartalmú szérumokkal és a latex tesztel.¹

Továbbá más olyan baktériumtörzseket is azonosítottak, amelyek építőpajai utánozzák az *E. coli* O157 lipopoliszacharidjában található építőpajokat.¹⁰

Az *E. hermanii* a következőképpen különböztethető meg az *E. coli* baktériumtól: az előbbi fermentálja a cellobiózt, kálium-cianid (KCN) jelenlétében szaporodik, a 4-metil-umbelliferil-D-glükuronid (MUG) assay során negatív reakciót ad és sárga elszíneződés figyelhető meg, amely késleltetett lehet.¹¹

12. TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

A DrySpot *E. coli* O157 készlet kiértékelésére egy nagy-britanniai klinikai mikrobiológiai laboratóriumban került sor. A készlettel és két másik, kereskedelembe kapható latex teszttel korábban jellemzett *E. coli* O157 törzseket és szorbitot nem fermentáló enterobacteriaceae baktériumokat vizsgáltak.

A DrySpot *E. coli* O157 készlet számított szenzitivitása 98,3% volt.

A DrySpot *E. coli* O157 készlet számított specifitása 100% volt.

Az alábbiakban összefoglaljuk a kiértékelés eredményeit:

Mikroorganizmus	Vizsgált összes	DrySpot <i>E. coli</i> O157 vizsgálat eredménye	
		Pozitív	Negatív
<i>E. coli</i> O157	60	59	1*
Más, szorbitot nem fermentáló enterobacteriaceae baktériumok	30	0	30

* Egy álnegatív reakciót jegyeztek fel egy olyan *E. coli* O157:H9 (VT-) esetében, amely az összes vizsgált latex készlettel negatív eredményt adott.

13. SZAKIRODALOM

1. Borczyk, A., Lior, H. and Ciebin, B. (1987). False positive identifications of *Escherichia coli* O157 in foods. Int. J. Food Microbiol. 4, 347–349.
2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric, S. (1977). Vero Response to a Cytotoxin of *Escherichia coli*. Vero Infect. Immun. 18, 775–779.
3. Scotland, S., Day, N. and Rowe, B. (1980). Production of a Cytotoxin Affecting Vero Cells by strains of *Escherichia coli* belonging to Traditional Enteropathogenic Serogroups. FEMS Microbiol. Lett. 7, 15–17.
4. Centers for Disease Control. (1982). Isolation of *E. coli* O157:H7 from Sporadic Cases of Hemorrhagic colitis United States. Morbid. Mortal. Wkly 31, 580–585.
5. Karmali, M., Still, B. et al. (1983). Sporadic cases of Haemolytic-Uraemic Syndrome Associated with Faecal Cytotoxin and Cytotoxin-Producing *Escherichia coli* in stools. Lancet i, 619–620.
6. Johnson, W., Lior, H. and Bezanson, G. S. (1983). Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Haemorrhagic colitis in Canada. Lancet i, 76.
7. March, S. and Ratnam (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. J. Clin. Microbiol. 23, 869–872.
8. Krishnan, C., Fitzgerald, et al. (1987). Laboratory Investigation of Outbreak of Haemorrhagic Colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. J. Clin. Microbiol. 25, 1043–1047.
9. Chapman, P. A. (1989). Evaluation of Commercial Latex Slide test for Identifying *Escherichia coli* O157. J. Clin. Pathol. 42, 1109–1110.

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

11. Brenner et al. (1982) Atypical biogroups of *Escherichia coli* found in clinical specimens and description of *Escherichia hermannii* sp. nov Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No.4 p703

14. JELMAGYARÁZAT

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



IFU X5326D, felülvizsgálva
2021 októberében

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

Készült az
Egyesült Királyságban



Kod identyfikacyjny TSMX5326D
www.oxid.com/ifu

Europa 00800 135 79 135

USA 1 855 2360 910

Kanada 1 855 805 8539

Inne +31 20 794 7071

Test lateksowy DrySpot E.coli O157

REF DR0120M..... 120

1. PRZEZNACZENIE

Jakościowy szkiełkowy test aglutynacji lateksowej przeznaczony do potwierdzającej identyfikacji izolatów *E. coli* z serogrupy O157 wyhodowanych na agarze. Wyrób ten, 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. ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Enterokrwotoczne szczepy *Escherichia coli* należą do wielu serogrup O, przy czym serogrupa O157 ma największe znaczenie w kontekście chorób występujących u ludzi.

Szczepy potencjalnie wytwarzające werocytotoksynę (verocytotoxin, VT) są powiązane z szeregiem objawów, od bezkrwawej biegunki, gorączki i wymiotów po krwotoczne zapalenie okrężnicy (haemorrhagic colitis, HC) i zespół hemolityczno-mocznicowy (haemolytic uraemic syndrome, HUS)^{1,2,3,4,5,6,7,8}.

Test lateksowy DrySpot *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) lub agarem MacConkeya z sorbitolem i dodatkiem cefiksymu i tellurytu (SR0172).

Większość szczepów *E. coli* O157:H7 nie fermentuje sorbitolu, dlatego tworzy na tym podłożu bezbarwne kolonie. Większość izolatów szczepów *E. coli* innych niż O157 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 izolat należy do serogrupy O157 i w związku z tym jest potencjalnym szczepem wytwarzającym VT.

Produkcję werotoksyny można potwierdzić przy użyciu zestawu Oxoid VTEC-RPLA (TD960A).

3. ZAWARTOŚĆ ZESTAWU (DR0120M)

DR0121M Karty reakcyjne do testu DrySpot *E. coli* O157 Zawiesina cząstek niebieskiego lateksu syntetycznego opłaszczonych przeciwciałami reagującymi swoiście z antygenem serogrupy O157 bakterii *E. coli* (testowy obszar reakcyjny).

Zawiesina cząstek niebieskiego lateksu syntetycznego opłaszczonych globulinami króliczymi przed immunizacją (kontrolny obszar reakcyjny). Cztery woreczki zawierające po 10 kart i saszetke pochłaniającej wilgoć. Na każdej karcie znajdują się 3 testowe i 3 kontrolne obszary reakcyjne — łącznie na 120 testów.

DR0122M Paski do kontroli dodatniej (10 kartoników — różowe punkty) Wybarwiony na różowo, inaktywowany ekstrakt antygenowy serogrupy *E. coli* O157.

DR0123M Paski do kontroli ujemnej (10 kartoników — zielone punkty) Wybarwiony na zielono, inaktywowany ekstrakt antygenowy serogrupy *E. coli* O116.

Łopatki do mieszania (2 woreczki)

Klipsy do zamykania woreczków (2)

Instrukcja używania (IFU)

Materiały wymagane, ale niedostarczone

Sól fizjologiczna (NaCl w stężeniu 0,9% przygotowany przy użyciu wody destylowanej lub dejonizowanej)

Eza mikrobiologiczna i palnik Bunsena

Odpowiedni laboratoryjny środek dezynfekujący

Stoper

4. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD

Produkt jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.

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

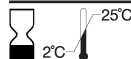
Wyłącznie do użytku profesjonalnego.

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 ThermoFisher, 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.

5. PRZECHOWYWANIE I OTWIERANIE



Zestaw należy przechowywać w temperaturze od 2°C do 25°C. W przypadku przechowywania zestawu w środowisku o niskiej temperaturze

przed otwarciem woreczków należy poczekać, aż osiągną one temperaturę pokojową, aby nie dopuścić do skroplenia pary wodnej na kartach. Wchłonięcie wilgoci przez suche odczynniki spowoduje pogorszenie ich działania oraz uzyskanie fałszywych wyników.

Otworzyć woreczki, przecinając je nożyczkami tuż pod uszczelnieniem.

Po otwarciu wyjąć liczbę kart wymaganych do testów, które będą przeprowadzane od razu (testy wykonywane w ciągu następnych 10 minut) i natychmiast ponownie zamknąć woreczek, zaciskając otwarty koniec woreczka pomiędzy dwiema połówkami klipsa z tworzywa sztucznego.

Jeśli liczba wykonywanych testów jest mniejsza, należy przeciąć karty reakcyjne wzdłuż wskazanych linii i odłożyć nieużywane części z powrotem do woreczka. Nie należy ponownie wkładać zużytych części kart, ponieważ spowoduje to zanieczyszczenie pozostałych kart w woreczku.

Kartoniki kontrolne również są dostarczane w woreczku nieprzepuszczającym wilgoci. Aby uniknąć uszkodzenia kartoników wskutek działania wilgoci, podczas ich użycia należy stosować takie same zasady, jak te opisane powyżej.

W takich warunkach odczynniki zachowują aktywność do daty ważności podanej na opakowaniu zestawu.

6. PROCEDURY KONTROLI

Dostarczone kartoniki kontrolne z suchymi odczynnikami należy stosować w opisany poniżej sposób każdego dnia przed wykonaniem rutynowych testów w celu sprawdzenia, czy odczynniki lateksowe działają prawidłowo.

Nanieść kroplę soli fizjologicznej o objętości 50 µl wewnątrz małego okręgu u podstawy owalu testowego obszaru reakcyjnego. Wyjąć kartonik do kontroli dodatniej z woreczka, odrywając go od reszty kartoników w pasku. Należy uważać, aby nie dotknąć elastycznego końca, na którym znajdują się punkty z wysuszonymi odczynnikami. Ponownie zamknąć wewnętrzną torebkę i woreczek. Odwrócić kartonik tak, aby kolorowe punkty były skierowane do dołu, i przyłożyć kartonik do karty w taki sposób, aby punkty zetknęły się z płynem. Docisnąć, aby koniec zgiął się w miejscu załamania, i mieszać okrężnie przez 10 sekund, aby ponownie uwodnić wysuszony odczynnik. Kontynuować mieszanie płynu z odczynnikami testowym DrySpot O157 przy użyciu kartonika, dopóki wszystkie odczynniki nie zostaną całkowicie uwodnione i nie będą w pełni jednorodne. Kołysać kartą i obserwować ją pod kątem aglutynacji. Procedurę należy powtórzyć przy użyciu kartonika do kontroli ujemnej.

W przypadku dodatniej kontroli DR0122M aglutynacja z wysuszonym odczynnikami testowym musi wystąpić w ciągu 1 minuty.

W przypadku ujemnej kontroli DR0123M w ciągu 1 minuty nie może dojść do aglutynacji.

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

7. WAŻNE UWAGI DOTYCZĄCE PROCEDURY

Nie dotykać kółek na kartach reakcyjnych, ponieważ może to spowodować zanieczyszczenie i tym samym wpłynąć na przebieg reakcji.

W środowisku o dużej wilgotności woreczków nie należy pozostawiać otwartych na czas dłuższy niż 2 minuty. W przypadkach jakichkolwiek śladów wilgoci na punktach nie używać materiałów.

Kropli soli fizjologicznej nie należy kierować bezpośrednio na punkty z wysuszonymi odczynnikami lateksowymi.

Klipsy do zamykania woreczków powinny zostać zachowane do wykorzystania w przyszłości, aby umożliwić otwarcie wielu opakowań. Mimo że zestaw i woreczki nadają się do przechowywania w temperaturze pokojowej, nie należy ich przechowywać w pobliżu źródeł ciepła. Nie powinny być przechowywane w miejscach, gdzie wystawienie na działanie światła słonecznego może spowodować wzrost temperatury.

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

W przypadku kontroli dodatniej widoczna aglutynacja z odczynnikami lateksowymi musi wystąpić w ciągu 1 minuty.

W przypadku kontroli ujemnej aglutynacja nie może wystąpić w ciągu 1 minuty.

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

8. MATERIAŁ HODOWLANY

Kolonie niefermentujące sorbitolu (non-sorbitol fermenting, NSF) można pobierać z agaru MacConkeya z sorbitolem lub agaru MacConkeya z sorbitolem i dodatkiem cefiksymu i tellurytu.

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

9. METODA BADANIA

- Nanieść po 1 kropli (50 µl) soli fizjologicznej (0,9%) wewnątrz małych okręgów (u dołu każdego owalu) zarówno w testowych, jak i kontrolnych obszarach reakcyjnych, uważając, aby płyn nie wymieszał się z wysuszonymi odczynnikami lateksowymi.
- Za pomocą sterylnej ezy (lub jednej z dostarczonych łopatek do mieszania) pobrać porcję badanej kolonii z płytki z podłożem hodowlanym i ostrożnie zemulgować materiał w kropli soli fizjologicznej. Upewnić się, że uzyskano jednolitą zawiesinę.
- Za pomocą dostarczonej łopatki wymieszać zawiesinę z punktami zawierającymi wysuszone odczynniki lateksowe aż do uzyskania całkowitego zawieszenia, a następnie rozprzecznić zawiesinę, aby pokryć cały obszar reakcyjny. Wyrzucić eż lub łopatkę w odpowiedni sposób.
- Wykonać te same kroki w przypadku kontrolnego odczynnika lateksowego, używając nowej ezy lub łopatki.
- Podnieść kartę i kołysać nią przez maksymalnie 60 sekund. Obserwować kartę pod kątem aglutynacji w standardowych warunkach oświetleniowych. Nie używać szkła powiększającego.
- Po ukończeniu testu w bezpieczny sposób wyrzucić karty reakcyjne do odpowiedniego środka dezynfekującego.

10. ODCZYT I INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wynik dodatni

Wynik jest dodatni, jeśli w ciągu 1 minuty zajdzie aglutynacja cząstek lateksowych.

Wskazuje to na obecność bakterii *E. coli* z serogrupy O157.

Wynik ujemny

Wynik jest ujemny, jeśli po 60 sekundach w obszarze testowym nie dojdzie do aglutynacji i nadal obecna będzie jednolita niebieska zawiesina.

Reakcje zachodzące po upływie 60 sekund należy zignorować.

Wynik nienadający się do interpretacji

Wynik testu nie nadaje się do interpretacji, jeśli w odczynniku kontrolnym obserwowana jest aglutynacja. Wskazuje to, że dana kultura powoduje autoaglutynację.

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 odczynnikiem testowym a odczynnikami kontrolnymi nie ma istotnych różnic w oczyszczeniu niebieskiego tła.

Jeżeli okaże się, że reakcja kłaczkowata jest zbyt silna, aby można było dokonać prawidłowej oceny, należy zawiesić kolejną kolonię w 0,3 ml soli fizjologicznej. Należy poczekać, aż grudki opadną na dno, i powtórzyć test, używając jednolitego supernatantu.

11. OGRANICZENIA DZIAŁANIA TESTU

Dostarczone łopatki do mieszania nie są sterylne. W razie potrzeby można je sterylizować lokalnie.

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 izolat jest szczepem wytwarzającym toksynę.

Odnutowywano inne serotypy wytwarzające werocytotoksynę.

Z powodu wspólnego antygenu szczepu z gatunku *Escherichia hermannii* reagują krzyżowo z surowicami przeciwko antygenowi serogrupy O157 bakterii *E. coli* i testem lateksowym¹.

Ponadto zidentyfikowano inne szczepy bakteryjne z epitopami naśladującymi lipopolisacharyd bakterii *E. coli* z serogrupy O157¹⁰.

Bakterie *E. hermannii* można odróżnić od bakterii *E. coli* na podstawie ich zdolności do fermentacji celobiozy, wzrostu w obecności cyjanku potasu (KCN), negatywnej reakcji w teście glukuronidu 4-metyloumbeliferonu (MUG) i żółtej pigmentacji, która może wystąpić z opóźnieniem.¹¹

12. CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA

Działanie zestawu DrySpot *E. coli* O157 oceniono w jednym klinicznym laboratorium mikrobiologicznym na terenie Wielkiej Brytanii. Opisane wcześniej szczepy *E. coli* O157 i inne niefermentujące sorbitolu szczepy należące do rodziny Enterobacteriaceae badano przy użyciu tego zestawu oraz dwóch komercyjnie dostępnych testów lateksowych.

Obliczona czułość zestawu DrySpot *E. coli* O157 wyniosła 98,3%.

Obliczona swoistość zestawu DrySpot *E. coli* O157 wyniosła 100%.

Wyniki oceny podsumowano poniżej:

Drobnoustrój	Łączna liczba testów	Wynik testu DrySpot <i>E. coli</i> O157	
		Wynik dodatni	Wynik ujemny
<i>E. coli</i> O157	60	59	1*
Inne niefermentujące sorbitolu szczepy z rodziny Enterobacteriaceae	30	0	30

* Reakcja fałszywie ujemna została odnotowana dla szczepu *E. coli* O157:H9 (VT), który dał wynik ujemny w przypadku wszystkich badanych zestawów do testów lateksowych.

13. PIŚMIENNICTWO

- Borczyk, A., Lior, H. and Ciebin, B. (1987). False positive identifications of *Escherichia coli* O157 in foods. Int. J. Food Microbiol. 4, 347–349.
- Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric, S. (1977). Vero Response to a Cytotoxin of *Escherichia coli*. Vero Infect. Immun. 18, 775–779.
- Scotland, S., Day, N. and Rowe, B. (1980). Production of a Cytotoxin Affecting Vero Cells by strains of *Escherichia coli* belonging to Traditional Enteropathogenic Serogroups. FEMS Microbiol. Lett. 7, 15–17.
- Centers for Disease Control. (1982). Isolation of *E. coli* O157:H7 from Sporadic Cases of Hemorrhagic colitis United States. Morbid. Mortal. Wkly 31, 580–585.
- Karmali, M., Still, B. et al. (1983). Sporadic cases of Haemolytic-Uraemic Syndrome Associated with Faecal Cytotoxin and Cytotoxin-Producing *Escherichia coli* in stools. Lancet i, 619–620.
- Johnson, W., Lior, H. and Bezanson, G. S. (1983). Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Haemorrhagic colitis in Canada. Lancet i, 76.
- March, S. and Ratnam (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. J. Clin. Microbiol. 23, 869–872.
- Krishnan, C., Fitzgerald, et al. (1987). Laboratory Investigation of Outbreak of Haemorrhagic Colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. J. Clin. Microbiol. 25, 1043–1047.
- Chapman, P. A. (1989). Evaluation of Commercial Latex Slide test for Identifying *Escherichia coli* O157. J. Clin. Pathol. 42, 1109–1110.
- Westerman, R. B., Yongsheng, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of *Escherichia coli* O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679–684.
- Brenner et al. (1982) Atypical biogroups of *Escherichia coli* found in clinical specimens and description of *Escherichia hermannii* sp. nov Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No.4 p703

14. LEGENDA SYMBOLI

	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Zapoznać się z instrukcją używania (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 X5326D, wersja poprawiona z października 2021 r.



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

Wydrukowano w Wielkiej Brytanii



Key Code TSMX5326C
www.oxoid.com/ifu

Europe +800 135 79 135 US 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

DrySpot E.coli O157 Latex Test

REF DR0120M.....  120 **DE**

1. VERWENDUNGSZWECK

Ein qualitativer Latex-Objektträger-Agglutinationstest zur bestätigenden Identifizierung von auf Agar kultivierten Isolaten von *E. coli*-Serogruppe O157. Das Gerät wird in einem diagnostischen Arbeitsablauf verwendet, um Klinikern bei den Behandlungsmöglichkeiten für Patienten zu helfen, bei denen der Verdacht auf bakterielle Infektionen besteht. Das Gerät ist nicht automatisiert, ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt und kein Begleitdiagnostikum.

2. TESTPRINZIP

Enterohaemorrhagische Escherichia coli (EHEC) lassen sich in zahlreichen O- Serogruppen finden, wobei *E. coli* O157 zu den bedeutendsten humanpathogenen Erregern zählt.

Potentiell Verotoxin (VT)-produzierende Stämme werden mit zahlreichen Symptomen assoziiert. Diese reichen von nicht-blutigem Durchfall über Fieber und Erbrechen bis zur Haemorrhagischer Colitis (HC) und dem Haemolytisch Urämisches Syndrom (HUS).

Mit dem OXOID Dryspot *E. coli* O157-Test werden *E. coli*-Stämme identifiziert, die Oberflächenantigene der Serogruppe O157 aufweisen. Zur Testdurchführung können Kolonien verwendet werden, die auf Sorbit- MacConkey-Nährboden (SMAC; Art.-Nr. CM0813) kultiviert wurden. Sorbit- MacConkey-Nährboden mit Cefixim und Tellurit (CT-SMAC; Art.-Nr. CM0813 und SR0172) kann alternativ zur Anzucht von *E. coli* und anschließenden Prüfung mit dem Dryspot *E. coli* O157-Test eingesetzt werden.

Der überwiegende Teil der Stämme von *E. coli* O157:H7 ist nicht in der Lage, Sorbit zu fermentieren (Sorbit-negativ) und wächst auf diesem Nährboden in farblosen Kolonien. Die Mehrzahl der nicht-O157 *E. coli* -Stämme kann Sorbit verwerten. Diese Sorbit-positiven Stämme zeigen charakteristisch pinkfarbene Kolonien.

Die zur Anzucht verwendeten Sorbit-MacConkey-Nährböden dienen einem ersten Screening. Sorbit-negative Kolonien können mit dem Dryspot *E. coli* O157-Test auf ihre Zugehörigkeit zur Serogruppe O157 getestet werden. Stämme der Serogruppe *E. coli* O157 gelten als potentielle Verotoxin-Bildner. Zur Prüfung der Verotoxin-Produktion stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Hierzu kann der OXOID VTEC-RPLA-Test (Art. Nr. TD0960A) eingesetzt werden.

3. BESTANDTEILE DES TESTS (DR0120M)

DR0121M Dryspot E. coli O157-Testkarten

4 Beutel mit je 10 Testkarten und Trocknungsmittel. Auf jeder Testkarte befinden sich 3 Reaktionsfelder und 3 Kontrollfelder. Die Reaktionsfelder sind mit blauem Latex-Testreagenz beschichtet. Suspension aus synthetischen blauen Latexpartikeln mit einer Beschichtung aus Antikörpern, die spezifisch mit dem Serogruppen-Antigen *E. coli* O157 reagieren.

Die Kontrollfelder sind mit unbeschichtetem, blauem Latex- Kontrollreagenz imprägniert. Der Inhalt ist ausreichend für 120 Tests.

DR0122M Positiv-Kontrolle: Streifen mit 10 Stäbchen.

Die Enden der Kontrollstäbchen sind mit **rosa** gefärbtem, inaktiviertem Antigen- Extrakt von *E. coli* O157 beschichtet.

DR0123M Negativ-Kontrolle: Streifen mit 10 Stäbchen.

Die Enden der Kontrollstäbchen sind mit **grün** gefärbtem, inaktiviertem Antigen- Extrakt von *E. coli* O116 beschichtet.

Rührstäbchen

Kunststoff-Clips (2)

Gebrauchsanleitung.

Zusätzlich benötigte Materialien

Kochsalz-Lösung (0,9% ig)

Impfösen

Laborbrenner

Geeignetes Desinfektionsmittel

Stoppuhr

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD

In vitro Diagnosticum.

Das Probenmaterial kann pathogene Erreger enthalten. Beachten Sie bitte die entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen.

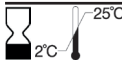
Nur zur Verwendung von Fachpersonal.

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.

5. LAGERUNG UND ÖFFNEN DER BEUTEL



Die Lagerung des Tests erfolgt bei 2 bis 25°C. Bei kühler Lagerung sollte sichergestellt werden, daß die Beutel vor Benutzung Raumtemperatur erreichen, wodurch die Bildung von Kondenswasser auf den Karten verhindert wird. Dieses könnte zu einer Beeinträchtigung der Aktivität der Trockenreagenzien und in Folge dessen zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Öffnen Sie die Beutel mit einer Schere direkt unterhalb der Schweißnaht. Entnehmen Sie dem geöffneten Beutel die

benötigte Anzahl an Testkarten.

Die Testkarten sollten innerhalb der nächsten 10 Minuten verbraucht werden.

Verschließen Sie den Beutel umgehend mit dem Kunststoff-Clip.

Wenn nur wenige Tests durchgeführt werden sollen, können die Testkarten entlang der Markierungen auseinandergeschnitten werden. Die unbenutzten Abschnitte zur weiteren Aufbewahrung in den Beutel zurücklegen. Benutzte Reaktionskarten nicht wieder in den Beutel zurückgeben.

Die Kontrollstäbchen werden in einem wasserundurchlässigen Beutel geliefert. Zur Vermeidung von Kondenswasserbildung und einer damit einhergehenden Schädigung der Testbestandteile sollten die oben genannten Vorsichtsmaßnahmen getroffen werden.

Bei Einhaltung dieser Vorgehensweise bleibt die Aktivität der Testreagenzien bis zum angegebenen Verfallsdatum unbeeinträchtigt.

6. KONTROLLVERFAHREN

Vor dem täglichen, routinemäßigen Gebrauch sollte das Latex-Testreagenz mit Hilfe der Positiv- und Negativ-Kontrolle (Art.-Nr. DR0122M und DR0123M) überprüft werden.

1. Mit einer Pasteurpipette 50 µl sterile Kochsalz-Lösung in den ovalen Kreis im unteren Bereich eines Reaktionsfeldes geben.
2. Ein Stäbchen der Positiv-Kontrolle (Art.-Nr. DR0122M) vorsichtig abtrennen und dem Beutel entnehmen. Hautkontakt mit den beschichteten Enden der Stäbchen ist zu vermeiden. Den Beutel nach Entnahme wieder verschließen.
3. Das farbige Ende des Stäbchens in die Kochsalz-Lösung auf dem Reaktionsfeld tauchen. Dabei das Stäbchen herunterdrücken bis es sich biegt und für ca. 10 Sekunden rühren.
4. Mit dem gleichen Stäbchen die Suspension mit dem getrockneten Latexreagenz verreiben, bis dieses vollständig rehydriert und homogenisiert ist.
5. Testkarte schwenken und auf Agglutination prüfen.

Dieses Verfahren ebenfalls mit der Negativ-Kontrolle (Art.-Nr. DR0123M) durchführen.

Die **Positiv-Kontrolle** (Art.-Nr. DR0122M) muß innerhalb einer Minute zu einer deutlichen Agglutination führen.

Die **Negativ-Kontrolle** (Art.-Nr. DR0123M) darf innerhalb einer Minute keine Agglutination mit dem Testreagenz zeigen.

Verwenden Sie den Test nicht, wenn die Kontrollen auf andere Weise, als hier beschrieben, reagieren.

7. WICHTIGE HINWEISE

Vermeiden Sie es, die Reaktionsfelder der Testkarten durch Hautkontakt zu kontaminieren.

Lassen Sie die Beutel bei hoher Luftfeuchtigkeit nicht länger als zwei Minuten geöffnet. Sind Anzeichen von Feuchtigkeit zu erkennen, sollten die entsprechenden Testkarten nicht mehr verwendet werden.

Geben Sie die Kochsalz-Lösung nicht direkt auf das getrocknete Latex- Testreagenz.

Die Kunststoff-Clips sollten für eine weitere Benutzung aufbewahrt werden. Obwohl der Test bei Raumtemperatur lagerbar ist, dürfen die Beutel nicht in der Nähe von Wärmequellen gelagert

oder direktem Sonnenlicht ausgesetzt werden.

Vor dem täglichen, routinemäßigen Gebrauch des Tests sollte das Latex- Testreagenz mit Hilfe der Positiv- als auch der Negativ-Kontrolle überprüft werden (siehe: Kontrollverfahren).

8. PROBENMATERIAL

Sorbit-negative Kolonien, die auf Sorbit-MacConkey-Nährboden (SMAC) und Sorbit-MacConkey-Nährboden mit Cefixim und Tellurit (CT-SMAC) kultiviert wurden, können zur Testung eingesetzt werden. Alternativ besteht die Möglichkeit, verdächtige Kolonien auf einem nicht-selektiven Nährboden (z.B. Nähragar) zu kultivieren und anschließend zu prüfen.

Es sollten bis zu 10 Sorbit-negative, verdächtige Kolonien **einzeln** getestet werden. Dadurch wird die Wahrscheinlichkeit der Identifizierung von *E. coli* O157-Stämmen, die möglicherweise in einer Mischkultur mit Sorbit-negativen *E. coli*-Stämmen anderer Serogruppen vorliegen, erhöht.

Durch die Verwendung des Latex-Kontrollreagenzes kann geprüft werden, ob es sich bei dem Isolat um einen autoagglutinierenden Stamm handelt.

9. TESTMETHODE

1. Mit einer Pasteurpipette je 50 µl sterile Kochsalz-Lösung in den ovalen Kreis im unteren Bereich eines Reaktionsfeldes und eines Kontrollfeldes geben. Dabei sollte ein Vermischen von getrocknetem Latex-Testreagenz und Kochsalz-Lösung vermieden werden.
2. Mit einer sterilen Impföse oder einem bereitgestellten Rührstäbchen Material von einer verdächtigen Kolonie abnehmen und in der Kochsalz- Lösung auf dem Reaktionsfeld emulgieren, bis eine homogene Suspension entsteht.
3. Mittels eines Rührstäbchens diese Suspension mit dem getrockneten Latex-Testreagenz vermischen und dabei über das gesamte Reaktionsfeld verteilen. Anschließend das Rührstäbchen entsorgen.
4. Das gleiche Verfahren mit einer neuen Impföse oder einem neuen Rührstäbchen zur Testung des Kontrollreagenzes einsetzen (Punkt 2–3).
5. Testkarte für eine Minute vorsichtig schwenken und auf Agglutination prüfen. Zum Ablesen der Ergebnisse keine Lupe benutzen.
6. Nach Ablesen aller Reaktionen die Testkarte in einem geeigneten Desinfektionsmittel entsorgen.

10. AUSWERTUNG UND ERGEBNISSE

Positives Testergebnis

Der Test gilt als positiv, wenn innerhalb einer Minute eine Agglutination der Latex-Partikel auftritt. Ein solches Ergebnis weist auf das Vorhandensein von *E. coli* Serogruppe O157 hin.

Negatives Testergebnis

Der Test gilt als negativ, wenn keine Agglutination eintritt und die Latex- Suspension im Reaktionsfeld nach einer Minute weiterhin homogen blau gefärbt ist. Agglutinationen, die nach Ablauf von einer Minute auftreten, sind als negativ zu bewerten.

Nicht interpretierbare Ergebnisse

Kommt es zu einer Agglutination des Kontrollreagenzes (im Kontrollfeld), ist das Ergebnis im Reaktionsfeld nicht auswertbar. Eine Agglutination des Kontrollreagenzes deutet auf Autoagglutination des getesteten Isolates hin.

Nicht homogene Reaktionen

Je nach Probenmaterial können als Reaktion feinkörnige oder faserige Ausflockungen beobachtet werden. In diesen Fällen sollten folgende Bewertungskriterien verwendet werden:

Der Test gilt als *positiv*, wenn sich der blaue Hintergrund des Testreagenzes im Reaktionsfeld, im Vergleich zum Kontrollfeld, deutlich geklärt hat.

Der Test gilt als *negativ*, wenn sich der blaue Hintergrund des Testreagenzes im Reaktionsfeld, im Vergleich zum Kontrollfeld, nicht deutlich geklärt hat.

Zeigt eine Kolonie eine so stark faserige Ausflockung, daß die Reaktion nicht abgelesen werden kann, sollte eine weitere Kolonie in 0,3 ml Kochsalz- Lösung suspendiert werden. Nach Absetzen der Partikel wird der klare Überstand zur Prüfung eingesetzt.

11. TESTBESCHRÄNKUNGEN

Die bereitgestellten Rührstäbchen sind nicht steril, sondern keimarm. Bei Bedarf können sie im Autoklaven bei 121°C für 15 Minuten sterilisiert werden. Treten positive Testergebnisse mit Isolaten unbekannter Spezies auf, sollten biochemische Tests durchgeführt werden, um sicherzustellen, daß es sich bei dem zu prüfenden Isolat um *E. coli* handelt.

Weder die Reaktion auf Sorbit-MacConkey-Nährboden oder auf Sorbit- MacConkey-Nährboden mit Cefixim und Tellurit noch die Reaktion im Dryspot *E. coli* O157-Test kann einen Stamm als Verotoxin-Bidner identifizieren. Die Produktion von Verotoxinen wurde auch bei anderen Serogruppen als O157 nachgewiesen.

Aufgrund eines gemeinsamen Antigens können im Dryspot *E. coli*-O157 Test Kreuzreaktionen mit Stämmen von *Escherichia hermanii* auftreten.¹

Auch wurden bei anderen Bakterienstämmen Epitope nachgewiesen, die das *E. coli* O157-Lipopolysaccharid imitieren.¹⁰

E. hermanii kann durch folgende Reaktionen von *E. coli* differenziert werden: *E. hermanii* verwertet Cellobiose, wächst in Anwesenheit von KCN, zeigt keine Spaltung von MUG (4-Methylumbelliferyl-β-D-Glucuronid) und die Kolonien weisen (z.T. verspätet) eine gelbe Pigmentierung auf.¹¹

12. LEISTUNGSMERKMALE

Die Leistungsfähigkeit des Dryspot *E. coli* O157-Tests wurde in einem klinisch-mikrobiologischen Labor in Großbritannien geprüft. Vorher charakterisierte Stämme von *E. coli* O157 und andere sorbit-negative Enterobacteriaceae wurden mit diesem und zwei anderen kommerziell erhältlichen Testen untersucht.

Der Dryspot *E. coli*-Test erreicht eine Sensitivität von 98,3% und eine Spezifität von 100%.

Organismus	Gesamt	Dryspot <i>E. coli</i> O157-Test	
		positiv	negativ
<i>E. coli</i> O157	60	59	1*
Andere sorbit-negative Enterobacteriaceae	30	0	30

* Eine falsch-negative Reaktion trat bei allen geprüften Latextesten mit einem Isolat von *E. coli* O157:H9 (VT-negativ) auf.

13. REFERENCES

1. Borczyk, A., Lior, H. and Ciebin, B. (1987). False positive identifications of Escherichia coli O157 in foods. Int. J. Food Microbiol. 4, 347–349.

2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric, S. (1977). Vero Response

to a Cytotoxin of Escherichia coli. Vero Infect. Immun. 18, 775–779.

3. Scotland, S., Day, N. and Rowe, B. (1980). Production of a Cytotoxin Affecting Vero Cells by strains of Escherichia coli belonging to Traditional Enteropathogenic Serogroups. FEMS Microbiol. Lett. 7, 15–17.

4. Centers for Disease Control. (1982). Isolation of *E. coli* O157:H7 from Sporadic Cases of Hemorrhagic colitis United States. Morbid. Mortal. Wkly 31, 580–585.

5. Karmali, M., Still, B. et al. (1983). Sporadic cases of Haemolytic-Uraemic Syndrome Associated with Faecal Cytotoxin and Cytotoxin-Producing Escherichia coli in stools. Lancet i, 619–620.

6. Johnson, W., Lior, H. and Bezanson, G. S. (1983). Cytotoxic Escherichia coli O157:H7 Associated with Hemorrhagic colitis in Canada. Lancet i, 76.

7. March, S. and Ratnam (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of Escherichia coli O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. J. Clin. Microbiol. 23, 869–872.

8. Krishnan, C., Fitzgerald, et al. (1987). Laboratory Investigation of Outbreak of Hemorrhagic Colitis caused by Escherichia coli O157:H7. J. Clin. Microbiol. 25, 1043–1047.

9. Chapman, P. A. (1989). Evaluation of Commercial Latex Slide test for Identifying Escherichia coli O157. J. Clin. Pathol. 42, 1109–1110.

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

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

14. SYMBOL LEGEND

	Bestellnummer
	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Temperatureinschränkung (Lagertemp.)
	Inhalt ausreichend für <N> Tests
	Bei beschädigter Verpackung nicht verwenden
	Nicht zur Wiederverwendung
	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
X5326D	April 2024 Aktualisiert zwecks Erfüllung der IVDR-Anforderungen



Key Code TSMX5326C
www.oxoid.com/ifu

Europe +800 135 79 135 US 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

DrySpot E.coli O157 Latex Test

REF DR0120M..... 120 ES

1. UTILIDAD

Prueba cualitativa de aglutinación en portaobjetos de látex para la identificación confirmatoria de cepas aisladas de *E. coli* del serogrupo O157 cultivadas en agar. El dispositivo 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. El producto no está automatizado, es solo para uso profesional y no es un diagnóstico complementario.

2. PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Los *E. coli* enterohemorrágicos pertenecen a unos cuantos serogrupos, siendo el O157 el más significativo en patología humana.

Las razas potencialmente productoras de verocitotoxina (VT) se asocian con una gama de síntomas que va, desde una diarrea no hemorrágica, fiebre y vómitos, hasta casos de colitis hemorrágica (HC) y síndrome urémico hemolítico (HUS).

Dryspot *E. coli* O157 látex test detecta, mediante aglutinación en tarjeta, razas de *E. coli* que poseen el antígeno del serogrupo O157. La prueba tiene un rendimiento óptimo cuando se utiliza en conjunción con Agar MacConkey Sorbitol (OXOID CM813) o Agar MacConkey Sorbitol con Cefixime Tellurite Supplement (SR172).

La mayoría de razas de *E. coli* O157 H7 no fermentan el sorbitol, dando colonias incoloras en este medio. La mayoría de aislados de *E. coli* no-O157 sí fermentan el sorbitol, dando las características colonias rosas.

El Agar MacConkey Sorbitol debe utilizarse como medio de cribado primario, tras el que las colonias no fermentadoras del sorbitol pueden ser ensayadas con el reactivo de látex, para determinar si el aislado pertenece al serogrupo O157 y, por tanto, es una raza potencialmente productora de VT.

La producción de verotoxina puede ser confirmada con el equipo VTEC- RPLA de OXOID (TD960A).

3. COMPONENTES DEL EQUIPO (DR0120M)

DR0121M Tarjetas con Reactivo Dryspot E. coli O157

Suspensión de partículas sintéticas de látex azul recubiertas de anticuerpo específicamente reactivo para el antígeno del serogrupo O157 de *E. coli*.
4 bolsas con 10 tarjetas y un saquito deshumectante cada una. Cada tarjeta tiene 3 áreas de prueba y 3 de control. 120 pruebas en total.

DR0122M Tiras de control positivo (10 tiras – manchas rosas)

Extracto antigénico inactivado de *E. coli* O157, teñido de rosa.

DR0123M Tiras de control negativo (10 tiras – manchas verdes)

Extracto antigénico inactivado de *E. coli* O116, teñido de verde.

Espátulas mezcladoras.

Pinzas de plástico(2)

Folleto de instrucciones.

Material necesario y no suministrado

Solución salina (NaCl al 0,9%, preparada con agua destilada o desionizada)

Asa microbiológica y mechero de Bunsen

Desinfectante apropiado

Cronómetro.

4. PRECAUCIONES

IVD

Este producto es para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.

Para uso por profesionales solamente.

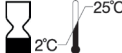
Las muestras pueden contener microorganismos patógenos. Manipular con las debidas precauciones.

Para obtener información sobre los componentes potencialmente peligrosos, consulte la hoja de datos sobre seguridad, disponible en el sitio web de ThermoFisher, y la documentación del producto.

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

En caso de mal funcionamiento, no utilice el dispositivo.

5. CONSERVACIÓN Y UTILIZACIÓN



El equipo debe conservarse entre 2 y 25°C. Si se conserva refrigerado, dejar que las bolsas se pongan a temperatura ambiente antes de su uso, para prevenir la condensación de humedad en las tarjetas, ya que si la absorben los reactivos desecados se deteriorarán y darán falsos resultados.

Abrir las bolsas cortando con tijeras justo por debajo del cierre sellado. Una vez abierta una bolsa, extraer el número necesario de tarjetas para análisis inmediato (las pruebas se han de realizar en un lapso máximo de 10 minutos) y cerrarla sin demora mediante la pinza de plástico suministrada con el equipo.

Si una tarjeta no se ha de utilizar en su totalidad cortar la parte no necesaria por las líneas indicadas y devolverla a la bolsa. En ningún caso se reintroducirán tarjetas con áreas de reacción ya utilizadas en las bolsas, ya que provocarían la contaminación de las tarjetas restantes.

Las tiras de control también se suministran en bolsas impermeables y se deben observar las mismas precauciones en su manipulación, para evitar el posible deterioro por absorción de humedad.

Bajo estas condiciones, los reactivos mantendrán su actividad hasta la fecha de caducidad indicada en cada caso.

6. PROCEDIMIENTOS DE CONTROL

Las tiras de control suministradas con el equipo deben ser utilizadas, de acuerdo con las instrucciones siguientes, cada día antes de proceder a los análisis, a fin de comprobar el correcto funcionamiento del reactivo de látex.

Añadir 50 µl de solución salina al círculo pequeño situado en la base del área de prueba ovalada. Extraer una tira de control positivo de su bolsa separándola del resto por la línea perforada, con cuidado de no tocar el extremo flexible donde se encuentran las manchas secas. Cerrar de nuevo las bolsas interior y exterior. Girar la tira y colocarla sobre la tarjeta, de modo que las manchas estén en contacto con el líquido. Presionar para que el extremo de la tira se doble por la línea de articulación premarcada y mezclar con movimiento circular durante 10 segundos, a fin de rehidratar el reactivo desecado. Con la misma tira extender el líquido por toda el área de prueba hasta que todos los reactivos estén completamente rehidratados y en una suspensión homogénea. Revolver la tarjeta circularmente y observar la aparición de aglutinación. Este mismo procedimiento debe realizarse con una tira de control negativo.

El control positivo DR0122M debe producir aglutinación en un lapso de 1 minuto.

El control negativo DR0123M no debe producir aglutinación en un lapso de 1 minuto.

No utilizar el equipo si las reacciones de los controles son incorrectas.

7. NOTAS IMPORTANTES AL PROCEDIMIENTO

No tocar los círculos de las tarjetas ya que pueden contaminarse y afectar a los resultados.

En ambientes muy húmedos no dejar las bolsas abiertas más de 2 minutos. No utilizar las tarjetas si hay evidencia de humedad en las manchas de las áreas de reacción.

No añadir la solución salina directamente sobre las manchas con látex desecado.

Se recomienda guardar las pinzas de plástico para cerrar las bolsas para usos posteriores. Evitar tener abiertos múltiples paquetes. Si bien se pueden conservar a temperatura ambiente, tanto los equipos como las bolsas no deben almacenarse cerca de fuentes de calor, ni tampoco en sitios expuestos a la luz solar.

Los controles suministrados con el equipo se deben utilizar para comprobar el correcto funcionamiento de los reactivos de látex, cada día antes de proceder a los análisis.

El control positivo debe producir una aglutinación visible del látex en un lapso de 1 minuto.

El control negativo no debe producir aglutinación en un lapso de 1 minuto.

No utilizar el equipo si las reacciones de los controles son incorrectas.

8. CULTIVOS A UTILIZAR

Se pueden obtener colonias no fermentadoras del sorbitol (NSF, Non-Sorbitol Fermenting) a partir de Agar MacConkey Sorbitol o Agar MacConkey Sorbitol con suplemento de Cefixima y Telurito.

Alternativamente, los aislados NSF se pueden subcultivar, antes de ser analizados, en algún medio no selectivo, como por ejemplo en Agar Nutritivo. Para garantizar una elevada probabilidad de detectar la presencia de razas O157 en cultivo mixto con otros serotipos de *E. coli* NSF, se deben analizar por separado no menos de 10 colonias NSF. El uso del látex de control permite asegurar que no se trata de una raza autoaglutinante.

9. PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

- Añadir una gota (50 µl) de solución salina (0,9%) al círculo pequeño (en el fondo de cada área oval), de las áreas de prueba y de control de la tarjeta, con cuidado de que el líquido no se mezcle con los reactivos de látex desecados.
- Tomar una porción de la colonia sospechosa con una asa estéril (o con una de las espátulas suministradas con el equipo) y emulsionarla con esmero en la gota de solución salina. Debe resultar una suspensión uniforme.
- Extender la suspensión con una espátula por el área de reacción hacia las manchas de látex desecado hasta su completa disolución y hasta cubrir toda el área de reacción. Desechar la espátula de modo apropiado.
- Proceder del mismo modo con el Látex de Control, usando otra espátula o asa.
- Revolver la tarjeta hasta 60 segundos y observar la aparición de aglutinación en condiciones normales de iluminación. No usar lupas o cualquier tipo de lente de aumento.
- Una vez terminado el análisis, desechar las tarjetas en un contenedor con desinfectante.

10. LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Resultado Positivo

Se considera un resultado positivo cuando se produce una aglutinación de las partículas de látex en un lapso de tiempo no superior a 1 minuto, lo que es indicativo de la presencia de *E. coli* serogrupo O157.

Resultado Negativo

Se considera un resultado negativo cuando no se produce aglutinación y la suspensión azul permanece uniforme después de 60 segundos.

Cualquier reacción que se produzca una vez transcurridos los 60 segundos debe ser ignorada.

Resultado Ininterpretable

Se considera un resultado ininterpretable cuando se produce una aglutinación en el reactivo de control, lo que es indicativo de que el cultivo es autoaglutinante.

Reacciones granulares o fibrilares

En ocasiones se pueden observar reacciones en las que la suspensión presenta gránulos o fibrillas, debido a la naturaleza particulada la muestra. Estas reacciones deben interpretarse según los criterios siguientes:

El resultado es *positivo* cuando el aclaramiento del fondo azul en el reactivo de prueba es mayor que en el reactivo de control.

El resultado es *negativo* cuando no hay diferencia significativa en el aclaramiento del fondo azul entre los reactivos de prueba y de control.

Si la aglomeración en fibrillas es tan importante que impide la interpretación, se debe suspender otra colonia en 0,3 ml de solución salina, dejar que sedimenten los grumos y repetir el análisis con el sobrenadante claro.

11. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Las espátulas mezcladoras suministradas con el equipo no están esterilizadas. Si fuere necesario, deben ser esterilizadas en el propio laboratorio.

Si se obtiene un resultado positivo con una colonia de un microorganismo no identificado, se debe proceder a una identificación bioquímica, a fin de confirmar que se trata de una raza de *E. coli*.

Ni el Agar MacConkey Sorbitol, ni el reactivo de Látex *E. coli* O157 son indicativos de que el aislado sea una raza productora de toxina.

Se han encontrado otros serotipos que producen verocitotoxina. Algunas razas de *Escherichia hermanii* presentan una reactividad cruzada con los sueros y reactivos de látex de *E. coli* O157, debido a un antígeno común.¹

También se han encontrado otras razas bacterianas con epítomos que imitan los del lipopolisacáride del *E. coli* O157.¹⁰

E. hermanii se puede diferenciar de *E. coli* porque fermenta la celobiosa, crece en presencia de KCN, da una reacción negativa con el 4- metilumberliferona glucurónido (MUG) y por la producción de una pigmentación amarilla, que puede ser tardía.¹¹

12. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

El funcionamiento del Dryspot *E. coli* O157 ha sido evaluado en un laboratorio de Microbiología Clínica en Gran Bretaña. Se ensayaron con este equipo razas de *E. coli* O157 y otras enterobacteriáceas no fermentadoras del sorbitol previamente caracterizadas, en comparación con otros dos equipos de aglutinación de látex disponibles en el mercado.

La sensibilidad calculada de Dryspot *E. coli* O157 fue del 98,3%.

La especificidad calculada de Dryspot *E. coli* O157 fue del 100%.

Los resultados de la evaluación se resumen en la siguiente tabla:

Microorganismo	Total Evaluados	Resultado de Dryspot <i>E. coli</i> O157	
		Positivos	Negativos
<i>E. coli</i> O157	60	59	1*
Otras enterobacteriáceas no fermentadoras del sorbitol	30	0	30

* Una reacción negativa falsa con un *E. coli* O157:H9 (VT-), que dió negativo con todos los reactivos de látex probados.

13. REFERENCIAS

1. Borczyk, A., Lior, H. and Ciebin, B. (1987). False positive identifications of *Escherichia coli* O157 in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 4, 347–349.

2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric, S. (1977). Vero Response to a Cytotoxin of *Escherichia coli*. *Vero Infect. Immun.* 18, 775–779.

3. Scotland, S., Day, N. and Rowe, B. (1980). Production of a Cytotoxin Affecting Vero Cells by strains of *Escherichia coli* belonging to Traditional Enteropathogenic Serogroups. *FEMS Microbiol. Lett.* 7, 15–17.

4. Centers for Disease Control. (1982). Isolation of *E. coli* O157:H7 from Sporadic Cases of Hemorrhagic colitis United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 31, 580–585.

5. Karmali, M., Still, B. et al. (1983). Sporadic cases of Haemolytic-Uraemic Syndrome Associated with Faecal Cytotoxin and Cytotoxin-Producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet* i, 619–620.

6. Johnson, W., Lior, H. and Bezanson, G. S. (1983). Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Haemorrhagic colitis in Canada. *Lancet* i, 76.

7. March, S. and Ratnam (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. *J. Clin. Microbiol.* 23, 869–872.

8. Krishnan, C., Fitzgerald, et al. (1987). Laboratory Investigation of Outbreak of Haemorrhagic Colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. *J. Clin. Microbiol.* 25, 1043–1047.

9. Chapman, P. A. (1989). Evaluation of Commercial Latex Slide test for Identifying *Escherichia coli* O157. *J. Clin. Pathol.* 42, 1109–1110.

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

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

14. 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
	No usar si el paquete está dañado
	No reutilizar
	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, Hampshire
Basingstoke, RG24 8PW, UK
+44 (0) 1256 841144 thermofisher.com

Versión	Fecha de la introducción de modificaciones
X5326D	Abril 2024 Se ha actualizado para cumplir los requisitos del IVDR



Key Code TSMX5326C
www.oxoid.com/ifu

Europe +800 135 79 135 US 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Test au Latex *E. coli* O157 DrySpot

REF DR0120M..... 120 **FR**

1. INTRODUCTION

Test qualitatif d'agglutination sur lame de latex pour l'identification confirmative d'*E. coli* de séro groupe O157 à partir d'isolats cultivés sur gélose. L'appareil est utilisé dans un processus diagnostique pour aider les cliniciens dans les options de traitement pour les patients chez qui l'on soupçonne des infections bactériennes. Le dispositif n'est pas automatisé, est destiné à un usage professionnel uniquement et n'est pas un diagnostic compagnon.

2. PRINCIPE DU TEST

Les *E. coli* entéro-hémorragiques appartiennent à différents sérogroupes O parmi lesquels le O157 est le plus fréquent en pathologie humaine.

Les souches produisant des vérocytotoxines (VT) sont associées à une série de symptômes allant de la diarrhée non hémorragique, de la fièvre et du vomissement à la colite hémorragique (HC) et au syndrome urémique hémolytique (HUS).

Le test au latex *E. coli* O157 Dryspot permet de mettre en évidence par une agglutination sur lame les souches de *E. coli* possédant l'antigène du séro groupe O157. Il est conseillé d'utiliser avec ce test la gélose MacConkey au sorbitol (CM813 OXOID) ou la gélose MacConkey au sorbitol additionnée du supplément Cefixime Tellurite (SR172).

La plupart des souches de *E. coli* O157:H7 ne fermentent pas le sorbitol et donnent donc des colonies incolores sur ce milieu. La plupart des souches qui ne sont pas des *E. coli* O157 fermentent le sorbitol et donnent des colonies roses caractéristiques.

Il est conseillé d'utiliser la gélose MacConkey au sorbitol comme test de screening. Les colonies qui ne fermentent pas le sorbitol, peuvent ensuite être testées avec les réactifs au latex, pour confirmer que la souche isolée appartient bien au séro groupe O157 et peut donc produire une vérocytotoxine.

On peut confirmer la production d'une vérocytotoxine avec le test VTEC- RPLA OXOID (TD960A).

3. COMPOSITION DU COFFRET (DR0120M)

DR0121M Cartes de réaction E. coli O157 Dryspot

Une suspension de particules de latex synthétique bleu recouvertes d'anticorps reconnaissant spécifiquement l'antigène du séro groupe O157 d'E. coli.

4 sachets contenant chacun 10 cartes et un dessiccateur

Il y a 3 zones test et 3 zones de contrôle de la réaction sur chaque carte, soit 120 tests au total.

DR0122M Bandes de contrôle positif (10 sticks – spots roses)

Extrait antigénique de *E. coli* O157 inactivé et coloré en rose.

DR0123M Bandes de contrôle négatif (10 sticks – spots verts)

Extrait antigénique de *E. coli* O116 inactivé et coloré en vert.

Pastettes

Clips des sachets (2)

Fiche technique

Matériel nécessaire, mais non fourni

Solution saline (0,9% de NaCl préparé avec de l'eau distillée ou désionisée)

Oese et bec Bunsen

Solution désinfectante

Chronomètre

4. PRÉCAUTIONS

IVD

Usage *in vitro* uniquement.

Usage exclusivement réservé à des professionnels.

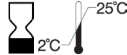
Les échantillons peuvent contenir des germes pathogènes et doivent être manipulés selon les précautions d'usage.

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.

5. CONSERVATION ET OUVERTURE



Conserver le coffret entre 2 et 25°C. Si les sachets sont conservés au froid, les laisser revenir à température ambiante avant utilisation pour éviter la formation de condensation sur les cartes. Les réactifs déshydratés se détériorent et donnent des résultats erronés s'ils absorbent l'humidité ambiante.

Ouvrir les sachets en coupant avec des ciseaux juste sous la ligne de scellage.

Une fois le sachet ouvert, prendre la nombre de cartes nécessaires pour un test immédiat (avant 10 minutes) et refermer immédiatement le sachet à l'aide du clip.

Si l'on désire faire un petit nombre de tests, couper les cartes de réaction suivant les lignes pointillées et remettre les portions inutilisées dans le sachet. Ne pas remettre dans le sachet des portions déjà utilisées car elles peuvent contaminer les autres.

Les sticks de contrôle sont également fournis dans un sachet imperméable à l'humidité. Prendre les mêmes précautions pour éviter toute absorption d'humidité.

Dans ees conditions, les réactifs se conservent jusqu'à la date de préemption indiquée sur le coffret.

6. CONTRÔLES

Les bandes de contrôle déshydraté doivent être utilisées une fois par jour avant de faire les tests, de façon à vérifier la validité des réactifs.

Déposer 50 ml de solution saline sur la carte de réaction (sur le cercle prévu à cet effet). Retirer un stick de contrôle positif du sachet en prenant soin de ne pas toucher l'extrémité flexible où se trouvent les Dryspots. Refermer les sachets. Tourner le stick de façon à ce que les spots colorés se trouvent en bas et placer le stick sur la carte, les spots touchant le liquide. Pousser vers le bas de façon à ce que l'extrémité plie à la charnière et mélanger de façon circulaire pendant 10 secondes pour réhydrater le réactif sec. Continuer de mélanger jusqu'à ce que tous les réactifs soient complètement réhydratés et homogènes. Imprimer à la carte un mouvement de rotation circulaire et observer l'agglutination. Répéter cette procédure avec le stick de contrôle négatif.

Le contrôle positif DR0122M doit donner une agglutination avec le réactif déshydraté en 1 minute.

Le contrôle négatif DR0123M ne doit pas donner d'agglutination en 1 minute.

Ne pas utiliser les réactifs si les contrôles sont incorrects.

7. REMARQUES IMPORTANTES

Ne pas toucher les cercles des cartes de réaction pour éviter toute contamination.

Dans une atmosphère à haut degré d'humidité, ne pas laisser les sachets ouverts plus de 2 minutes. S'il y a trace d'humidité, ne pas utiliser les spots.

Ne pas ajouter la goutte de solution saline directement sur les spots de latex desséché.

Les clips des sachets peuvent être réutilisés. Bien que devant être conservés à température ambiante, le coffret ou les sachets ne doivent pas être conservés près d'une source de chaleur, ni exposés à la lumière, celle-ci pouvant provoquer une hausse de température.

Les contrôles fournis doivent être utilisés une fois par jour avant de faire les tests, de façon à vérifier la validité des réactifs.

Le contrôle positif doit donner une agglutination avec le latex en moins de 1 minute.

Le contrôle négatif ne doit pas donner d'agglutination en 1 minute.

Ne pas utiliser le test si les contrôles sont incorrects.

8. CULTURE

Les colonies ne fermentant pas le sorbitol (NSF) peuvent être prélevées sur gélose MacConkey au sorbitol ou sur gélose MacConkey au sorbitol additionnée du supplément Cefixime Tellurite, ou repiquées sur des milieux non sélectifs tels qu'une gélose nutritive.

Il est nécessaire de tester au moins 10 colonies NSF séparées pour avoir la plus grande probabilité de détecter toutes les souches O157 qui peuvent être mélangées à des souches *E. coli* NSF d'autres sérotypes. L'utilisation du latex de contrôle permet de s'assurer que la souche n'est pas autoagglutinable.

9. MODE OPÉRATOIRE

- Ajouter une goutte (50 µl) de solution saline (0,9%) sur les petits cercles (à la base de chaque zone de réaction), à la fois dans les zones de test et dans les zones de contrôle. Le liquide ne doit pas se mélanger aux latex déshydratés.
- A l'aide d'une oese stérile (ou d'une des pastettes fournies),

prélever à partir d'une boîte de milieu de culture un peu de la colonie à tester et l'émulsionner doucement dans la solution saline. La suspension obtenue doit être homogène.

- A l'aide de la pastette fournie, bien mélanger la suspension dans les spots de latex déshydraté jusqu'à complète homogénéisation et recouvrir toute la zone de réaction. Éliminer la pastette de façon appropriée.
- En utilisant une autre oese ou une autre pastette, procéder de la même façon avec le latex de contrôle.
- Imprimer à la carte un mouvement de rotation douce pendant 60 secondes environ et observer l'agglutination sous une lumière normale. Ne pas utiliser de loupe pour la lecture.
- Une fois le test terminé, éliminer les cartes de réaction dans une solution désinfectante.

10. LECTURE ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Résultat positif

Un résultat est considéré comme positif s'il y a agglutination des particules de latex en moins d'1 minute (présence de *E. coli* séro groupe O157).

Résultat négatif

Le résultat est négatif s'il n'y a pas d'agglutination et si le latex demeure uniformément bleu en 1 minute.

Ne pas tenir compte d'une réaction apparaissant après 1 minute.

Résultat ininterprétable

Le test est ininterprétable si le réactif de contrôle présente une agglutination. Ceci indique une autoagglutination.

Réactions granuleuses ou filamenteuses

Les réactions peuvent être filamenteuses ou granuleuses, ceci étant dû à la nature de l'échantillon. Elles peuvent être interprétées de la façon suivante:

- réaction positive si l'éclaircissement du fond bleu est plus important avec le latex test qu'avec le latex de contrôle,
- réaction négative si le fond reste bleu avec le latex test et le latex de contrôle.

Si l'aspect filamenteux est jugé trop important pour permettre un résultat correct, mettre une autre colonie en suspension dans 0,3 ml de solution saline. Laisser sédimenter les grumeaux et retester le surnageant.

11. LIMITES DU TEST

Les pastettes fournies ne sont pas stériles. Elles peuvent être stérilisées sur place si nécessaire.

Si un résultat positif est obtenu avec une colonie non identifiée, faire des tests biochimiques pour confirmer que le microorganisme est bien une souche de *E. coli*.

Ni la gélose MacConkey au sorbitol, ni le test au latex *E. coli* O157 ne peuvent confirmer directement que l'isolat est bien une souche produisant une toxine.

On a mis en évidence d'autres sérotypes produisant une vérocytotoxine. Des souches de *Escherichia hermanii* peuvent croiser avec *E. coli* O157 à cause d'une antigène commun.¹

En outre, d'autres souches bactériennes ont été identifiées avec des épitopes voisins de ceux du lipopolysaccharide de *E. coli* O157.¹⁰

E. hermanii peut être différencié de *E. coli* par la fermentation du cellobiose, la croissance en présence de KCN, une réaction négative avec le MUG (4-méthylumbelliférone glucuronide) et

une pigmentation jaune qui peut être retardée¹¹.

12. PERFORMANCES

Les performances du test *E. coli* O157 Dryspot ont été évaluées dans un laboratoire de microbiologie clinique en Grande-Bretagne. Des souches de *E. coli* O157 et d'autres entérobactéries ne fermentant pas le sorbitol ont été testées avec ce test et deux autres tests au latex disponibles dans le commerce.

Sensibilité du test *E. coli* O157 Dryspot: 98,3%.

Spécificité du test *E. coli* O157 Dryspot: 100%.

Les résultats de l'évaluation sont résumés ci-dessous:

Microorganisme	Nombre total de tests	Résultats du test <i>E. coli</i> O157 Dryspot	
		Positif	Négatif
<i>E. coli</i> O157	60	59	1*
Autres entérobactéries ne fermentant pas le sorbitol	30	0	30

* Un résultat faussement négatif a été enregistré avec un *E. coli* O157:H9 (VT-) qui a donné un résultat négatif avec tous les tests au latex.

13. REFERENCES

1. Borczyk, A., Lior, H. and Ciebin, B. (1987). False positive identifications of Escherichia coli O157 in foods. Int. J. Food Microbiol. 4, 347–349.
2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric, S. (1977). Vero Response to a Cytotoxin of Escherichia coli. Vero Infect. Immun. 18, 775–779.
3. Scotland, S., Day, N. and Rowe, B. (1980). Production of a Cytotoxin Affecting Vero Cells by strains of Escherichia coli belonging to Traditional Enteropathogenic Serogroups. FEMS Microbiol. Lett. 7, 15–17.
4. Centers for Disease Control. (1982). Isolation of *E. coli* O157:H7 from Sporadic Cases of Hemorrhagic colitis United States. Morbid. Mortal. Wkly 31, 580–585.
5. Karmali, M., Still, B. et al. (1983). Sporadic cases of Haemolytic-Uraemic Syndrome Associated with Faecal Cytotoxin and Cytotoxin-Producing Escherichia coli in stools. Lancet i, 619–620.
6. Johnson, W., Lior, H. and Bezanson, G. S. (1983). Cytotoxic Escherichia coli O157:H7 Associated with Haemorrhagic colitis in Canada. Lancet i, 76.
7. March, S. and Ratnam (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of Escherichia coli O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. J. Clin. Microbiol. 23, 869–872.
8. Krishnan, C., Fitzgerald, et al. (1987). Laboratory Investigation of Outbreak of Haemorrhagic Colitis caused by Escherichia coli O157:H7. J. Clin. Microbiol. 25, 1043–1047.
9. Chapman, P. A. (1989). Evaluation of Commercial Latex Slide test for Identifying Escherichia coli O157. J. Clin. Pathol. 42, 1109–1110.
10. Westerman, R. B., Yongsheng, H. et al. (1997). Production and Characterisation of Monoclonal Antibodies Specific for the Lipopolysaccharide of Escherichia coli O157. J. Clin. Microbiol. 35, 679–684.
11. Brenner et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No. 4 p.703

14. 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
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
	Ne pas réutiliser
	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
X5326D	Avril 2024 Mise à jour afin de répondre aux exigences en matière d'IVDR



Key Code TSMX5326C
www.oxoid.com/ifu

Europe +800 135 79 135 US 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Test au Latex *E. coli* O157 DrySpot

REF DR0120M.....  120 **IT**

1. INTRODUZIONE

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. Il dispositivo non è automatizzato, è solo per uso professionale e non è un adatto per la diagnostica di accompagnamento.

2. PRINCIPIO DEL TEST

I ceppi enteroemorragici di *E. coli* appartengono a svariati sierogruppi O:

l'O157 è il più rilevante nella patologia umana.

I ceppi potenzialmente produttori di verocitotossina (VT) sono associati con molti sintomi diversi che vanno da diarrea non sanguinante, febbre, vomito, fino a casi di colite emorragica (HC) e sindrome uremico-emolitica (HUS).

Dryspot *E. coli* O157 Latex Test identifica, mediante agglutinazione su vetrino, i ceppi di *E. coli* che possiedono l'antigene del sierogruppo O157. Il test fornisce i migliori risultati quando è utilizzato in associazione con il Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM813) o con il Sorbitol MacConkey Agar supplementato con Cefixime Tellurite Supplement (SR172). I ceppi di *E. coli* O157:H7 non fermentano il sorbitolo e quindi formano su questo terreno colonie incolori. La maggior parte dei ceppi di *E. coli* fermenta il sorbitolo e forma, di conseguenza, le caratteristiche colonie rosa.

Si raccomanda di utilizzare il Sorbitol MacConkey Agar come terreno di screening primario. Le colonie che non fermentano il sorbitolo possono quindi essere saggiate con i reagenti al lattice, per determinare se l'isolamento appartiene al sierogruppo O157 ed è di conseguenza un potenziale ceppo produttore di VT. La produzione di verocitotossina può essere confermata mediante il kit VTEC-RPLA Oxoid (TD960A).

3. MATERIALE COMPRESO NEL KIT (DR0120M)

DR0121M Cartoncini di reazione Dryspot *E. coli* O157.

Una sospensione di particelle in lattice sintetico blu rivestite con anticorpo particolarmente reattivo all'antigene del sierogruppo *E. coli* O157.

4 bustine contenenti 10 cartoncini di reazione ed un sacchetto di materiale assorbente di protezione contro l'umidità. Ciascun cartoncino è suddiviso in 3 aree per l'esecuzione del test e 3 aree per le reazioni di controllo. Il kit consente l'esecuzione – in

totale – di 120 test.

DR0122M Strip di controllo positivo (10 stick – spot rosa).

Estratto antigenico inattivato di *E. coli* O157, di colore rosa.

DR0123M Strip di controllo negativo (10 stick – spot verdi)

Estratto antigenico inattivato di *E. coli* O116, di colore verde.

Bastoncini di miscelazione

Clip di chiusura (2)

Foglietto di istruzione.

Materiali aggiuntivi richiesti per l'esecuzione del test

Soluzione fisiologica (NaCl 0.9%. Utilizzare acqua distillata o deionizzata)

Anse batteriologiche e becco Bunsen

Cronometro

Idonea soluzione disinfettante di laboratorio.

4. PRECAUZIONI

IVD

Il prodotto è indicato esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*. Solo per uso professionale.

I campioni possono contenere microrganismi potenzialmente patogeni. Maneggiare con le opportune precauzioni.

A potenciálisán veszélyes összetevőkkel kapcsolatosan a ThermoFisher weboldalán elérhető biztonsági adatlapon és a termékícmén talál információkat.

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.

Meghibásodás esetén ne használja a készüléket.

5. CONSERVAZIONE



Il prodotto deve essere conservato tra 2 e 25°C. Se il prodotto è conservato in frigorifero, lasciare che le bustine raggiungano la temperatura ambiente prima di aprirle, al fine di impedire la formazione di condensa sui cartoncini. I reagenti essiccati, infatti, se assorbono umidità possono deteriorarsi e fornire risultati falsati.

Per aprire le bustine tagliare con le forbici appena sotto il sigillo.

Dopo aver aperto la bustina, estrarre il numero di cartoncini richiesto per i test di immediata esecuzione (si raccomanda di eseguire l'esame entro 10 minuti), quindi sigillare nuovamente la bustina serrandone i lembi con la clip di plastica.

Se è richiesto un numero inferiore di test, ritagliare il cartoncino di reazione lungo le linee prestampate e riporre le porzioni non utilizzate nella bustina. Non riporre nella bustina le porzioni usate del cartoncino, poiché possono contaminare i rimanenti cartoncini.

Gli stick di controllo sono anch'essi forniti in una busta impermeabile all'umidità. Assicurarsi che anche con questi ultimi siano usate le medesime precauzioni per evitare i danni causati dall'umidità.

In queste condizioni i reagenti mantengono la loro attività fino alla

data di scadenza evidenziata in etichetta.

6. PROCEDURE DI CONTROLLO

Gli stick di controllo essiccati compresi nella confezione devono essere utilizzati ogni giorno prima dell'esecuzione delle analisi di routine seguendo il protocollo di seguito riportato, per verificare il corretto funzionamento del reagente al lattice.

Aggiungere una goccia (50 µl) di soluzione fisiologica nel piccolo cerchio posto alla base dell'area ovale di reazione. Prelevare dalla busta una strip di controllo positivo e staccare uno stick, avendo cura di evitare di toccare l'estremità flessibile dove sono localizzati gli spot essiccati. Risigillare la busta interna ed il sacchetto. Ruotare lo stick in modo da avere gli spot colorati rivolti verso il basso e porlo sul cartoncino con gli spot a contatto con la soluzione fisiologica. Premere verso il basso in modo che l'estremità si pieghi a cardine e mescolare con movimento circolare per 10 secondi per reidratare il reagente essiccato. Continuando ad usare lo stick, mescolare la soluzione nel reagente test Dryspot O157 finché tutti i reagenti non risulteranno perfettamente reidratati ed omogenei. Ruotare il cartoncino ed osservare se interviene agglutinazione. Ripetere il procedimento utilizzando uno stick di controllo negativo.

Il **controllo positivo** DR122M deve mostrare agglutinazione entro 1 minuto di reazione con il reagente essiccato.

Il **controllo negativo** DR123M non deve evidenziare – nel primo minuto – alcuna agglutinazione.

Non utilizzare il prodotto in presenza di reazioni non corrette con i reagenti di controllo.

7. IMPORTANTI NOTE PROCEDURALI

Non toccare le aree di reazione sul cartoncino, per evitare contaminazioni che potrebbero invalidare i risultati dei test.

Non lasciare le bustine aperte in ambienti molto umidi più di 2 minuti. Non utilizzare il cartoncino qualora si evidenzino tracce di umidità negli spot di reazione.

Non aggiungere direttamente la goccia di soluzione fisiologica sugli spot di lattice essiccato.

Si consiglia di conservare le clip di chiusura per usi futuri, al fine di poter impiegare più di una bustina alla volta. Il kit può essere conservato a temperatura ambiente, tuttavia evitare di riporlo in prossimità di fonti di calore. Si raccomanda inoltre di non conservarlo in luoghi esposti a luce solare diretta, che può causare un eccessivo riscaldamento del prodotto.

8. PREPARAZIONE DELLE COLTURE

I ceppi batterici da identificare crescono come colonie non fermentanti il sorbitolo (NSF) e possono essere prelevati da Sorbitol MacConkey Agar (Oxoid CM813) o da Sorbitol MacConkey Agar con Cefixime Tellurite Supplement (Oxoid SR172). 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 distinte colonie NSF. Il reagente di controllo è utilizzato per verificare che la colonia isolata non appartenga ad un ceppo autoagglutinante.

9. TECNICA

1. Aggiungere una goccia (50 µl) di soluzione fisiologica (0.9%) nei cerchi piccoli (predisposti alla base di ciascun ovale), sia nelle aree del test sia nelle aree di controllo, assicurandosi che il liquido non si mescoli con il reagente al lattice essiccato.

2. Usando un'ansa, (o i bastoncini di miscelazione, forniti dal kit) prelevare dalla piastra del terreno di coltura una porzione della colonia sospetta ed emulsionarla accuratamente con la goccia di soluzione fisiologica. Assicurarsi che la sospensione così ottenuta risulti omogenea.
3. Miscelare, con l'ausilio di un'ansa o di un bastoncino di miscelazione, la sospensione con gli spot di lattice essiccato finché non si sono risospesi completamente e spandere la miscela sull'intera area di reazione. Flambare l'ansa, oppure eliminare il bastoncino di miscelazione in soluzione disinfettante.
4. Usando una seconda ansa o un nuovo bastoncino di miscelazione, ripetere lo stesso procedimento utilizzando il lattice di controllo.
5. Ruotare il cartoncino per 60 secondi ed osservare, in condizioni di luce normale, se interviene agglutinazione. Non utilizzare lenti di ingrandimento per la lettura.
6. Terminato il test, eliminare in soluzione disinfettante i cartoncini di reazione utilizzati.

10. LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Risultato positivo

Interviene agglutinazione delle particelle di lattice entro 1 minuto. Il risultato positivo indica la presenza di *E. coli* sierogruppo O157.

Risultato negativo

Assenza di agglutinazione entro 1 minuto. La colorazione blu di fondo dell'area di reazione rimane invariata ed omogenea.

Eventuali reazioni di agglutinazione tardive (oltre i 60 secondi) devono essere ignorate.

Risultati non interpretabili

I risultati del test non possono essere interpretati se il reagente di controllo mostra agglutinazione: questa evidenza indica che la coltura causa autoagglutinazione.

Reazioni granulari o viscosi

Occasionalmente, a causa della natura particolata del materiale in esame, si possono osservare reazioni granulari o di natura viscosa. I risultati di questo tipo devono essere interpretati usando i seguenti criteri:

Il risultato è *positivo* se la reazione con il reagente test mostra una colorazione blu di fondo più chiara rispetto a quella evidenziata dalla reazione con il reagente di controllo.

Il risultato è *negativo* se le reazioni con i due reagenti al lattice non mostrano differenze significative della colorazione blu di fondo.

Se la vischiosità è molto forte e pregiudica una interpretazione corretta, sospendere un'altra colonia in 0.3 ml di soluzione fisiologica. Lasciare sedimentare la frazione più grossolana e, utilizzando il sovrantante, ripetere il test.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

I bastoncini di miscelazione non sono sterili. Se necessario, si dovrà provvedere a sterilizzarli localmente.

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*.

Sia Sorbitol MacConkey Agar che Dryspot *E. coli* O157 Latex Test non possono direttamente confermare che la colonia isolata è un ceppo produttore di tossina.

E' stato dimostrato che altri sierotipi, diversi dall'O157, sono produttori di vero-citotossina.

Ceppi di *Escherichia hermanii* agglutinano con gli antisieri verso *E. coli* O157 e con Dryspot *E. coli* Latex Test per la presenza di un antigene comune con *E. coli* O157 (Borczyk *et al*)¹.

Sono stati identificati anche altri batteri con epitopi che simulano quelli del lipopolisaccaride di *E. coli* O157¹⁰.

E. hermanii può essere differenziato da *E. coli* in base alla fermentazione di *E. hermanii* del cellobiosio, in presenza di KCN, alla reazione negativa nel saggio con 4-metilumbelliferil glucuronide (MUG) ed alla pigmentazione gialla, che può apparire in ritardo.¹¹

12. CARATTERISTICHE DEL TEST

Le caratteristiche di Dryspot *E. coli* O157 Oxoid sono state valutate presso un laboratorio di microbiologia clinica in Gran Bretagna. Ceppi di *E. coli* O157, precedentemente caratterizzati, ed altri enterobatteri non fermentanti il sorbitolo sono stati saggiati con Dryspot *E. coli* O157 Oxoid insieme ad altri due test disponibili sul mercato.

La sensibilità di Dryspot *E. coli* O157 Oxoid è del 98.3%.

La specificità di Dryspot *E. coli* O157 Oxoid è del 100%.

I risultati della valutazione sono riassunti di seguito:

Microrganismo	Campioni Esaminati	Risultati con Dryspot <i>E. coli</i> O157	
		Positivo	Negativo
<i>E. coli</i> O157	60	59	1*
Altri enterobatteri non fermentanti il sorbitolo	30	0	30

* E’ stata registrata una reazione falsa negativa per un ceppo di *E. coli* O157:H9 (VT-), cha forniva risultato negativo con tutti i test al lattice esaminati.

13. REFERENCES

1. Borczyk, A., Lior, H. and Ciebin, B. (1987). False positive identifications of Escherichia coli O157 in foods. Int. J. Food Microbiol. 4, 347–349.

2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric, S. (1977). Vero Response to a Cytotoxin of Escherichia coli. Vero Infect. Immun. 18, 775–779.

3. Scotland, S., Day, N. and Rowe, B. (1980). Production of a Cytotoxin Affecting Vero Cells by strains of Escherichia coli belonging to Traditional Enteropathogenic Serogroups. FEMS Microbiol. Lett. 7, 15–17.

4. Centers for Disease Control. (1982). Isolation of *E. coli* O157:H7 from Sporadic Cases of Hemorrhagic colitis United States. Morbid. Mortal. Wkly 31, 580–585.

5. Karmali, M., Still, B. et al. (1983). Sporadic cases of Haemolytic-Uraemic Syndrome Associated with Faecal Cytotoxin and Cytotoxin-Producing Escherichia coli in stools. Lancet i, 619–620.

6. Johnson, W., Lior, H. and Bezanson, G. S. (1983). Cytotoxic Escherichia coli O157:H7 Associated with Haemorrhagic colitis in Canada. Lancet i, 76.

7. March, S. and Ratnam (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of Escherichia coli O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. J. Clin. Microbiol. 23, 869–872.

8. Krishnan, C., Fitzgerald, et al. (1987). Laboratory Investigation of Outbreak of Haemorrhagic Colitis caused by Escherichia coli O157:H7. J. Clin. Microbiol. 25, 1043–1047.

9. Chapman, P. A. (1989). Evaluation of Commercial Latex Slide

test for Identifying Escherichia coli O157. J. Clin. Pathol. 42, 1109–1110.

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

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

14. SIMBOLO LEGGENDA

	Numero di catalogo
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Consultare le istruzioni per l'uso (IFU)
	Limiti di temperatura (temp. di conservazione)
	Nemojte upotrebljavati ako je pakiranje oštećeno
	Nemojte ponovno upotrebljavati
	Contiene materiali sufficienti per <N> test
	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
X5326D	Aprile 2024 Aggiornato per conformità a IVDR



Key Code TSMX5326C
www.oxoid.com/ifu

Europe +800 135 79 135 US 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

Test au Latex *E. coli* O157 DrySpot

REF DR0120M.....  120 **PT**

1. INTRODUÇÃO

Um teste qualitativo de aglutinação de lâminas de látex para a identificação confirmatória de isolados de *E. coli* serogrupo O157 cultivados em ágar. O dispositivo é utilizado num fluxo de trabalho de diagnóstico para ajudar os médicos nas opções de tratamento de doentes suspeitos de terem infeções bacterianas. O dispositivo não é automatizado, destina-se apenas a utilização profissional e não é um diagnóstico complementar.

2. PRINCÍPIO DO TESTE

As *E. coli* enterohemorrágicas pertencem a diferentes sorogrupos ‘O’ sendo que a variedade O157 é a mais significativa em termos das doenças humanas.

As cepas potencialmente produtoras de verocitotoxinas (VT) estão associadas a uma série de sintomas que vão, desde a diarreia não hemorrágica, febres e vômitos, a casos de colite hemorrágica (CH) e a síndrome urêmica hemolítica (SUH).

Dryspot *E. coli* O157 detecta, através da aglutinação em cartões, cepas de *E. coli* que possuem o antígeno do sorogrupo O157. O teste apresenta um melhor desempenho, quando associado ao Ágar Sorbitol MacConkey (Oxoid CM813) ou ao Ágar Sorbitol MacConkey e o Suplemento Cefixime Telurite (SR172).

A maioria das cepas de *E. coli* O157 não fermenta o sorbitol, e portanto as colônias se apresentam incolores neste meio. A maioria das cepas de *E. coli* não pertencentes a variedade O157 fermentam o sorbitol, originando colônias cor de rosa.

O Ágar Sorbitol MacConkey deve ser utilizado como meio para a triagem primária, pois as colônias não fermentadoras de sorbitol podem ser testadas com o reagente, a fim de determinar se o isolado em questão pertence ao sorogrupo O157 e se é portanto uma cepa potencialmente produtora de VT.

A produção de verotoxinas deverá ser confirmada com o kit Oxoid VTEC- RPLA (TD960A).

3. COMPONENTES DO KIT (DR0120M)

DR0121M Cartões Dryspot E. coli O157

Uma suspensão de partículas sintéticas de látex azul revestidas com anticorpo especificamente reativo ao antígeno do serogrupo O157 de *E. coli*.

4 envelopes contendo cada um 10 cartões e um sachet com dessecante. Cada cartão contém três áreas de reação de teste e 3 áreas de reação de controle, o que equivale a um total de 120 testes.

DR0122M Tiras controle positivo (10 tiras com pontos rosa)
Extrato antigênico desidratado, inativado de *E. coli* O157 corado de rosa.

DR0123M Tiras controle negativo (10 tiras com pontos verde)
Extrato antigênico desidratado, inativado de *E. coli* O116 corado de verde.

Espátulas para homogeneização

Presilhas dos envelopes (2)

Folheto de instruções.

Materiais necessários mas não fornecidos:

Solução salina (NaCl) a 0,9% preparado com água destilada ou deionizada

Alça microbiológica e bico de Bunsen

Desinfetante apropriado para laboratório

Cronômetro.

4. PRECAUÇÕES



Este produto é utilizado exclusivamente para diagnóstico *in vitro*.

Exclusivamente para uso profissional.

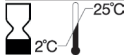
As amostras podem conter organismos patogênicos. Manusear com o devido cuidado.

Informacje na temat potencjalnie niebezpiecznych składników można znaleźć w karcie charakterystyki substancji niebezpiecznej dostępnej na stronie internetowej firmy ThermoFisher oraz na oznakowaniu produktu. Consulte a ficha de dados de segurança, disponível no site da ThermoFisher, e a etiquetagem do produto para obter informações sobre componentes potencialmente perigosos.

Wszelkie poważne incydenty związane z wyrobem należy zgłaszać producentowi oraz właściwemu organowi państwa członkowskiego, w którym użytkownik i/lub pacjent ma siedzibę/miejsce zamieszkania. 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.

W przypadku uszkodzenia nie używać wyrobu. Em caso de mau funcionamento, não utilize o dispositivo.

5. ARMAZENAGEM E MANUSEIO



Este kit deve ser armazenado entre 2° e 25°C. Se armazenado sob refrigeração, deixar os envelopes alcançarem a temperatura ambiente antes de serem utilizados, para evitar a condensação da umidade nos cartões. Caso absorvam umidade, os reagentes desidratados deterioram-se, podendo dar resultados falsos.

Para abrir os envelopes, cortá-los com tesoura imediatamente abaixo do ponto de vedação.

Uma vez que se tenha aberto um envelope, retirar o número de cartões necessários para os testes e utilizá-los imediatamente (realizar os testes no intervalo de 10 minutos), fechar em seguida o envelope, prendendo a sua extremidade aberta com a presilha de plástico.

Caso sejam necessários menos testes do que os círculos contidos nos cartões, cortar os cartões de reação ao longo das linhas indicadas, voltando a colocar as áreas de teste não utilizadas

dentro do envelope. Não colocar os cartões utilizados dentro do envelope, o que contaminaria os restantes cartões de reação.

As tiras de controle também são fornecidos em envelopes impermeáveis, com o objetivo de evitar que a umidade os danifique.

Nessas condições, os reagentes mantêm sua atividade até a data indicada na caixa do kit.

6. PROCEDIMENTOS DE CONTROLE

Diariamente, antes de se efetuarem os testes de rotina, as tiras controle fornecidas devem ser utilizados conforme indicado a seguir, para se verificar o correto funcionamento do reagente de látex.

Adicionar uma gota de 50 µl de solução salina ao pequeno círculo que se encontra na base da área oval de reação. Retirar uma tira de controle positivo do envelope, rasgando-a e separando-a das tiras resantes, tendo o cuidado de evitar tocar na extremidade flexível, onde se encontram os pontos corados. Fechar o envelope. Inverter a tira de modo que os pontos corados entrem em contato com o líquido. Pressionar para baixo até que a extremidade se dobre na articulação e misturar com movimentos circulares durante 10 segundos, a fim de reidratar o reagente seco. Continuar a utilizar a tira para misturar o líquido ao reagente do teste Dryspot O157, até que todos os reagentes estejam completamente reidratados e homogêneos.

Proceder movimentos giratórios suaves para verificar se há sinais de aglutinação. Este procedimento deve ser repetido com uma tira de controle negativo.

O **controle positivo** DR0122M deve apresentar aglutinação no período de 1 minuto.

O **controle negativo** DR0123M não deve apresentar aglutinação no período de 1 minuto.

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

7. OBSERVAÇÕES IMPORTANTES SOBRE O PROCEDIMENTO

Não tocar nos círculos que se encontram nos cartões de reação, a fim de não contaminar os mesmos, afetando os resultados.

Não deixar os envelopes abertos durante mais de 2 minutos num ambiente muito úmido. Não utilizar cartões onde se evidenciem umidade nas áreas de reação.

Não colocar a gota de salina diretamente sobre os pontos secos do látex.

As presilhas dos envelopes podem ser guardadas para serem utilizadas posteriormente. Evitar abrir ao mesmo tempo vários envelopes. Embora tenham sido concebidos para serem armazenados à temperatura ambiente, o kit ou os envelopes não devem ser armazenados perto de uma fonte de calor, nem em locais onde a exposição à luz solar cause aumentos de temperatura.

Os controles fornecidos devem ser utilizados diariamente para verificar o funcionamento correto dos reagentes de látex, antes de se efetuarem os testes habituais.

O controle positivo deve causar uma aglutinação visível com o reagente de látex dentro de 1 minuto.

O controle negativo não deve causar nenhuma aglutinação dentro de 1 minuto.

Não utilizar o teste caso as reações com as suspensões de controle

sejam incorretas.

8. COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Podem ser utilizadas colônias não fermentadoras de sorbitol (NSF) do Ágar Sorbitol MacConkey ou do Ágar Sorbitol MacConkey com Suplemento de Telurite Cefixime.

Alternativamente, podem inocular-se isolados de NSF em meios não seletivos, tais como Ágar Nutritivo, para testar os mesmos. É necessário testar até 10 colônias distintas de NSF para aumentar a probabilidade de descobrir quaisquer cepas de O157 em cultura mista com *E. coli* NSF de outros sorotipos. A utilização do látex controle permite assegurar que o isolado não seja uma cepa auto-aglutinante.

9. PROCEDIMENTO DO TESTE

- Adicionar uma gota (50 µl) de solução salina (a 0,9%) ao pequeno círculo (que se encontra na parte inferior de cada círculo) nas áreas reação do teste e controle, não permitindo que o líquido se misture com os reagentes secos de látex.
- Utilizar uma alça estéril (ou uma das espátulas fornecidas) para repicar e retirar uma parte da colônia suspeita de uma placa de meios de cultura, e emulsionar cuidadosamente na gota de solução salina. Misturar até ter uma suspensão totalmente homogênea.
- Utilizando a espátula fornecida, misturar a suspensão aos pontos secos de látex até o preparado ficar completamente suspenso, espalhando-o com a alça de forma a cobrir a área da reação. Descartar a alça ou espátula de maneira apropriada.
- Empregando uma alça ou espátula diferente, proceder da mesma forma com o Látex Controle.
- Segurar o cartão e proceder movimentos giratórios suaves durante não mais de 60 segundos, verificando a presença de aglutinação em condições normais de iluminação. Não utilizar lupa.
- Uma vez concluído o teste, descartar os cartões de reação de forma segura, colocando em recipientes contendo desinfetante.

10. LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Resultado Positivo

O resultado é positivo caso ocorra a aglutinação das partículas de látex azul dentro de 1 minuto, o que identifica a presença do sorogrupo O157 da *E. coli*.

Resultado Negativo

O resultado é negativo se não ocorrer nenhuma aglutinação, permanecendo no círculo do teste uma suspensão azul homogênea 60 segundos depois de se ter iniciado o teste.

Ignorar as reações que ocorram após 60 segundos.

Resultado não interpretável

O teste não pode ser interpretado caso se observe a aglutinação no reagente de controle, o que indica que a cultura em questão causou auto-aglutinação.

Reações granulares ou filamentosas

Por vezes observam-se reações granulares ou filamentosas devido à natureza particulada do material testado. Caso se observe a ocorrência de tais reações, as mesmas devem ser interpretadas de acordo com os seguintes critérios:

O resultado é **positivo** se, na reação com o reagente teste, se observar um nível superior de ausência do fundo azul em comparação com a reação do reagente controle. O resultado é

negativo caso não houver diferença entre o fundo azul obtido por ação do reagente teste ou do reagente controle.

Caso a viscosidade do material seja demasiada para permitir uma avaliação correta, deve se suspender outra colônia em 0,3 ml de soro fisiológico. Deixar assentar as partículas e voltar a testar o líquido sobrenadante homogêneo¹¹.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

As espátulas para homogeneização fornecidas não estão esterilizadas, podendo ser esterilizadas localmente se necessário.

Caso se obtenha um resultado positivo numa colônia de uma espécie desconhecida, devem ser efetuados testes bioquímicos para confirmar a identidade do organismo e verificar se é uma variedade 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 variedade produtora de toxinas.

Já foram descobertos outros sorotipos que produzem a verocitotoxina. Algumas cepas de *Escherichia hermanii* têm uma reação cruzada com o látex dos testes de *E. coli* O157 devido a um antígeno compartilhado por ambos¹.

Além disso, identificaram-se já outras cepas de bactérias com determinantes antígenos que imitam os do lipopolissacarídeo de *E. coli* O157¹⁰.

Pode se diferenciar o *E. hermanii* do *E. coli* através das seguintes qualidades patenteadas pelo primeiro: fermentação da celobiose, crescimento em presença de KCN, a reação negativa no teste de 4-Metilumbeliferona glicuronida (MUG) e a pigmentação amarela, que poderá ser retardada.

12. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

O desempenho do kit Dryspot *E. coli* O157 foi avaliado num laboratório de microbiologia clínica da Grã-Bretanha. Foram testados com este kit e com outros dois testes de látex disponíveis no mercado, cepas previamente caracterizadas de *E. coli* O157 e de outras enterobactérias que não fermentam o sorbitol.

Foi determinada a sensibilidade do kit Dryspot de *E. coli* O157 de 98,3%.

Foi determinada a especificidade do kit Dryspot de *E. coli* O157 de 100%.

Os resultados da avaliação encontram-se resumidos a seguir:

Organismo	Total dos testes	Resultado dos testes Dryspot <i>E. coli</i> O157	
		Positivo	Negativo
<i>E. coli</i> O157	60	59	1*
Outras enterobactérias que não fermentam sorbitol	30	0	30

* Foi registrada uma reação falso negativa em relação a uma cepa de *E. coli* O157 (VT-) que apresentou um resultado negativo com kits de látex testados.

13. BIBLIOGRAFIA

1. Borczyk, A., Lior, H. and Ciebin, B. (1987). False positive identifications of *Escherichia coli* O157 in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 4, 347–349.

2. Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric, S. (1977). Vero Response to a Cytotoxin of *Escherichia coli*. *Vero Infect. Immun.* 18, 775–779.

3. Scotland, S., Day, N. and Rowe, B. (1980). Production of a Cytotoxin Affecting Vero Cells by strains of *Escherichia coli* belonging to Traditional Enteropathogenic Serogroups. *FEMS*

Microbiol. Lett. 7, 15–17.

4. Centers for Disease Control. (1982). Isolation of *E. coli* O157:H7 from Sporadic Cases of Hemorrhagic colitis United States. *Morbid. Mortal. Wkly* 31, 580–585.

5. Karmali, M., Still, B. et al. (1983). Sporadic cases of Haemolytic-Uraemic Syndrome Associated with Faecal Cytotoxin and Cytotoxin-Producing *Escherichia coli* in stools. *Lancet* i, 619–620.

6. Johnson, W., Lior, H. and Bezanson, G. S. (1983). Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic colitis in Canada. *Lancet* i, 76.

7. March, S. and Ratnam (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. *J. Clin. Microbiol.* 23, 869–872.

8. Krishnan, C., Fitzgerald, et al. (1987). Laboratory Investigation of Outbreak of Hemorrhagic Colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. *J. Clin. Microbiol.* 25, 1043–1047.

9. Chapman, P. A. (1989). Evaluation of Commercial Latex Slide test for Identifying *Escherichia coli* O157. *J. Clin. Pathol.* 42, 1109–1110.

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

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

14. DEFINIÇÕES 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
	Não utilizar em caso de danos na embalagem
	Não reutilizar
	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 Ltd Wade Road,
Basingstoke, Hampshire,
RG24 8PW, Reino Unido

Para obter assistência técnica, contacte o seu distribuidor local.

Versão	Data de introdução das alterações
X5326D	Abril 2024 Atualizado para cumprir requisitos de IVDR