

#### BEDOELD GEBRUIK

De Prolex™ E. coli O157 latextestreagenskit is een agglutinatietestkit voor de vermoedelijke identificatie van *Escherichia coli* serogroep O157.

#### SAMENVATTING EN TOELICHTING

*Escherichia coli* serotype O157:H7 is een Shiga toxineproducerend pathogeen.<sup>1,2</sup> Van dit serotype is gemeld dat het een etiologisch agens is in gevallen van uitbraak van hemorragische colitis.<sup>3,4,5</sup> Het is ook geassocieerd met hemolytisch uremisch syndroom.<sup>6</sup> Bepaalde andere *E. coli* serotypen dan O157:H7 produceren ook Shiga toxine.<sup>7,8,9</sup> De door deze andere serotypen veroorzaakte diarree is echter niet bloederig. Bovendien fermenteert *E. coli* serotype O157:H7 geen sorbitol, terwijl de meeste andere dat wel doen.<sup>10,11</sup> Daarom geldt dat als sorbitol MacConkey Agar als primair screen wordt gebruikt de kolonies *E. coli* serotype O157:H7 er kleurloos uitzien (niet-sorbitolfermenterende kolonies [NSFC]), terwijl kolonies van de andere serotypen altijd roze zijn (sorbitolfermenterende kolonies [SFC]).<sup>11</sup>

#### PRINCIPE VAN DE TEST

De blauwe polystyreen latexdeeltjes die in de kit worden gebruikt zijn gecoat met een antilichaam tegen het *E. coli* O157 somatisch antigeen. Als deze latexdeeltjes worden gemengd met jonge kolonies *E. coli* serogroep O157, zullen de bacteriën binden aan het antilichaam, als gevolg waarvan de latexdeeltjes agglutineren (positieve reactie). Bacteriën die geen *E. coli* O157 zijn, binden niet aan het antilichaam en agglutineren niet (negatieve reactie).

#### GELEVERDE MATERIALEN

Prolex™ E. coli O157 latexreagens (PL.072B / PL.073B):

- Eén druppelflesje met 3,1 ml (PL.070B) of 6,2 ml (PL.071B) latexdeeltjes, gecoat met gezuiverd konijnen-IgG dat reageert met *E. coli* serogroep O157. De latexdeeltjes worden gesuspenderd in een buffer met 0,098% natriumazide als conserveermiddel.

Prolex™ E. coli O157 positieve controle (PL.074B / PL.075B):

- Eén druppelflesje met 1,5 ml (PL.070B) of 3,0 ml (PL.071B) positieve controlesuspensie met *E. coli* serotype O157:H7 antigeen geproduceerd door het oogsten en inactiveren van *E. coli* serotype O157:H7 kolonies gekweekt op agarmedium. Het antigeen is gesuspenderd in een buffer met 0,095% natriumazide als conserveermiddel.

Prolex™ E. coli O157 negatieve controle latexreagens (PL.077B / PL.076B):

- Eén druppelflesje met 1,5 ml (PL.070B) of 3,0 ml (PL.071B) latexdeeltjes, gecoat met gezuiverd konijnen-IgG dat niet reageert met *E. coli* serogroep O157. De latexdeeltjes worden gesuspenderd in een buffer met 0,098% natriumazide als conserveermiddel.
- Testkaarten
- Roerstaafjes
- Gebruiksaanwijzing

#### BENODIGDE MAAR NIET GELEVERDE MATERIALEN

- Normale zoutoplossing
- 12 x 75 mm reageerbuisjes
- Entingslus of -naald
- Pasteurpipetten

#### STABILITEIT EN OPSLAG

Reagentia moeten worden opgeslagen bij 2°C tot 8°C. Reagentia die onder deze condities worden opgeslagen, zijn stabiel tot de vervaldatum op het productetiket. **Niet invriezen.**

#### VOORZORGSMAATREGELEN

1. De kit is uitsluitend bedoeld voor diagnostisch gebruik *in vitro*.
2. Gebruik de reagentia niet na de op het productlabel vermelde uiterste gebruiksdatum.
3. De reagentia bevatten  $\leq 0,098\%$  natriumazide. Natriumazide kan explosief reageren met koperen of loden leidingen wanneer het de kans krijgt op te hopen. Hoewel de hoeveelheid natriumazide in de reagentia minimaal is, dient men grote hoeveelheden water te gebruiken wanneer de reagentia door de gootsteen worden gespoeld.
4. Specimens en reagentia moeten als potentieel infectieus worden beschouwd en algemene voorzorgsmaatregelen moeten worden genomen bij het uitvoeren van de test.
5. Gebruik de latexreagentia niet als autoagglutinatie zichtbaar is. Dat ziet eruit als agglutinatie van het Prolex™ E. coli O157 latexreagens in afwezigheid van een test-isolaat of agglutinatie van het negatieve controle latexreagens in aanwezigheid van positieve controle antigeen of het test-isolaat.
6. Voor het verkrijgen van geldige testresultaten dient men zich te houden aan de procedures, opslagcondities, voorzorgsmaatregelen en beperkingen gespecificeerd in deze richtlijnen.
7. Sommige reagentia bevatten materialen van dierlijke oorsprong en dienen behandeld te worden als mogelijke dragers en overbrengers van ziekte.

#### PREPAREREN VAN KWEKEN

Klinische specimens moeten worden gekweekt op sorbitol MacConkey Agar. Niet-sorbitolfermenterende kolonies (NSFC) kunnen direct worden getest of op een niet-selectief agarmedium. Kolonies uit een kweek gedurende 18-24 uur moeten voor het testen geheel worden verwijderd uit het agar-oppervlak met gebruikmaking van een steriele lus of naald. Jonge, snelgroeivende kweken geven meestal de beste resultaten.

#### TESTPROTOCOL

1. Laat vóór gebruik alle reagentia op kamertemperatuur komen.
2. Breng met een pipet 0,2 ml normale zoutoplossing over in een 12 x 75 mm reageerbuisje.
3. Haal met een steriele lus of naald voldoende kolonies van de plaat en suspender deze in de zoutoplossing om een turbiditeit te verkrijgen die overeenkomt met een 3-5 McFarland Standard.
4. Plaats één druppel van het Prolex™ E. coli O157 Latexreagens in een testcirkel op een van de geleverde testkaarten. Voeg met een Pasteurpipet één druppel van de testsuspensie toe in dezelfde testcirkel met gebruikmaking van één van de geleverde roerstaafjes.
5. Schud de kaart voorzichtig op en neer en onderzoek gedurende maximaal twee minuten op agglutinatie.
6. Isolaten die een positief resultaat geven met het testlatex moeten verder worden getest door herhaling van de procedure met gebruikmaking van het Prolex™ Negatieve controle latexreagens.

#### KWALITEITSCONTROLEPROCEDURES

Het Prolex™ E. coli O157 Latexreagens en het Prolex™ negatieve controle latexreagens moeten worden getest met de Prolex™ positieve controle voordat de testisolaten worden onderzocht. Er moet binnen twee minuten agglutinatie zijn met het Prolex™ E. coli O157 latexreagens en geen agglutinatie met het Prolex™ negatieve controle latexreagens.

#### INTERPRETATIE VAN RESULTATEN

1. De volgende tabel geeft de resultaten weer die zijn verkregen met de Prolex™ E. coli O157 latexreagentia en de Prolex™ E. coli O157 positieve controle moet worden geïnterpreteerd:

O157 LATEX REAGENS	NEGATIEVE CONTROLE LATEXREAGENS	OPMERKINGEN
+	-	De prestaties van de kit zijn bevredigend.
-	-	De potentie is te laag. Werp de reagentia weg.
+	+	Autoagglutinatie: Werp de reagentia weg.

2. Agglutinatie van latexreagentia met het testspecimen wordt geïnterpreteerd zoals hieronder weergegeven:

O157 LATEX REAGENS	NEGATIEVE CONTROLE LATEXREAGENS	OPMERKINGEN
+	-	Aanwijzingen voor <i>E. coli</i> serogroep O157.
+	+	Autoagglutinerende of kruisreactie vertonende stam aanwezig. Voer verdere tests uit ter uitsluiting van <i>E. coli</i> O157.
-	niet uitgevoerd	Geeft afwezigheid aan van <i>E. coli</i> serogroep O157.
vezelig of mucoïde uiterlijk	niet uitgevoerd	Niet-interpreteerbaar. Maak nieuwe suspensie van kolonies in zoutoplossing en laat klonten uiteenvallen. Herstel supernatans..

#### BEPERKINGEN VAN DE PROCEDURE

1. Test alleen kolonies die typerende kolonie-morfologie vertonen op Sorbitol MacConkey Agar (niet-sorbitolfermenterend).
2. Positieve testresultaten moeten worden bevestigd met gebruikmaking van routine biochemische tests.
3. Dit reagens werd ontwikkeld voor het detecteren van de aanwezigheid van *E. coli* serogroep O157 antigeen. Een aantal andere *E. coli* O157 stammen (bijv. O157:H16) die niet-sorbitolfermenterend zijn, geven ook een positief resultaat met deze test.<sup>1,12,13</sup>
4. Hoewel deze test specifiek is ontwikkeld voor het verminderen van de normale kruisreactiviteit van *Escherichia hermannii* (12), kunnen zeldzame stammen een kruisreactie veroorzaken.







#### PRESTATIEKENMERKEN

De klinische prestaties van de Prolex™ E. coli O157 testkit werden beoordeeld in een microbiologisch laboratorium van een ziekenhuis. Bloederige ontlastingspecimens van 474 met diarree, hemorragische colitis of hemolytisch uremisch syndroom gediagnosticeerde patiënten werden op kweek gezet. Van deze 474 specimens produceerden er 47 sorbitolnegatieve kolonies en testten positief voor *E. coli* stam O157 met een in de handel verkrijgbare latextest. Deze

resultaten werden bevestigd door conventionele biochemische tests. Alle 47 van deze isolaten gaven een positief resultaat indien getest met de Prolex™ *E. coli* O157 latexreagenskit (47/47 = 100% gevoeligheid).

#### REFERENTIES

1. **Konowalchuk J., Speirs J.I., Stavric S.** 1977. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. Infect. Immun. 18:775-779.
2. **Ratnam S., March S.B., Ahmed R., Bezanson G.S., Kasatiya S.** 1988. Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7. J. Clin. Microbiol. 26:2006-2012.
3. **C.D.C.** 1982. Isolation of *E. coli* O157:H7 from sporadic cases of hemorrhagic colitis. United States MMRW 31:580-585.
4. **Johnson W.M., Lior H., Bezanson G.S.** 1983. Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 associated with haemorrhagic colitis in Canada. Lancet *i*:76.
5. **Krishnan C., Fitzgerald V., Dakin S., Behme R.J.** 1987. Laboratory investigation of outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. J. Clin. Microbiol. 25:1043-1047.
6. **Karmali M.A., Steele B.T., Petric M., Lim C.** 1983. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. Lancet. *i*:619-620.
7. **Karmali M.A., Petric M., Lim C., Cheung R., Arbus G.S.** 1985. Sensitive method for detecting low numbers of verotoxin-producing *Escherichia coli* in mixed cultures by use of colony sweeps and polymyxin extraction of verotoxin. J. Clin. Microbiol. 22:614-619.
8. **Law D.** 1988. Virulence factors of enteropathogenic *Escherichia coli*. J. Med. Microbiol. 26:1-10.
9. **Scotland S.M., Day N.P., Rowe B.** 1980. Production of a cytotoxin affecting vero cells by strains of *Escherichia coli* belonging to traditional enteropathogenic serogroups. FEMS Microbiol. Lett. 7:15-17.
10. **Farmer III J.J., Davis B.R.** 1985. H7 Antiserum-sorbitol fermentation medium: a single tube screening medium for detecting *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J. Clin. Microbiol. 22:620-625.
11. **March S.B., Ratnam S.** 1986. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J. Clin. Microbiol. 23:869-872.
12. **Borczyk A., Lior H., Cebin B.** 1987. False positive identification of *Escherichia coli* in foods. Int. J. Food Microbiol. 4:347-349.
13. **Thompson J.S., Hodge D.S., Borczyk A.A.** 1990. Rapid biochemical test to identify verocytotoxin-positive strains of *Escherichia coli* serotype O157. J. Clin. Microbiol. 28:2165-2168.

	= Fabrikant
	= Bevoegde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap
	= Bevat voldoende voor (n) testen
	= In vitro diagnostische medische test
	= Temperatuurbeperking
	= Raadpleeg de instructies voor gebruik

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