



O157 Coli-Strip CE

(C-1011)

**Test immunochromatograficzny in vitro
do wykrywania bakterii *E.coli* O157
w kale wzbogaconym pożywką bulionową.**

TYLKO DO UŻYTKU IN VITRO

Numer katalogowy: C-1011, 20 testów w opakowaniu
CE/98/79 numer rejestracyjny : BE/CA02/683/03

I. WPROWADZENIE

Wśród chorobotwórczych bakterii *Escherichia coli* (EEC), 4 rodzaje są uznawane za przyczynę występowania u ludzi niezytu ziołodka i jelit: Enterotoksyczna *E.coli* (ETEC), Enteropatogenna *E.coli* (EPEC), Enteroinwazyjna *E.coli* (EIEC) i Enterokrwotoczna *E.coli* (EHEC).

E.coli O157 należy do grupy enterokrwotocznych. Drogą szerzenia jest spożycie zakażonej bakterią żywności: surowego mięsa, wody, mleka, niepasteryzowanego soku jabłkowego, sałaty, kiełków, etc. Symptomy to skurcze brzuszne i bezkrwawa biegunka aż do krwawej (krwotoczne zapalenie okrężnicy). Objawom tym może towarzyszyć gorączka i wymioty. Większość pacjentów wraca do zdrowia po 10 dniach.

Dzieci poniżej 5 roku życia, ludzie w podeszłym wieku i z zaburzeniami systemu immunologicznego należą do potencjalnej grupy ryzyka.

Poważne komplikacje w postaci zespołu hemolityczno-mocznicowego (HUS) występują w 2 do 10% przypadków, z czego około 3-5% kończy się fatalnie.

Choroba często jest trudna do zdiagnozowania mimo wykonania kosztownych badań.

Nie zaleca się aby antybiotyki łagodziły przebieg choroby czy też ich zastosowanie w leczeniu miało wpływ na ograniczenie komplikacji.

Należy również unikać stosowania preparatów przeciwbiegunkowych. Jest też ważne aby przyjmować duże ilości płynów w ochronie przed odwodnieniem.

Na podstawie rocznych danych, w Stanach Zjednoczonych problem ten dotyczy około 10,000 do 20,000 ludzi, z czego 500 osób umiera.

II. ZASADA METODY

Test ten jest gotowy do użycia i bazuje na zastosowaniu jednolitego immunochromatograficznego systemu ze złotym koloidem.

Wzbogacone pożywką bulionową próbki kału muszą być rozcieńczone w buforze, który jest dołączony do testu. Nitrocelulozowa membrana jest uczulona przeciwciałem przeciwko *E.coli* O157.

Specyficzność testu jest gwarantowana przez monoklonalne przeciwciała, swoiste dla *E.coli* O157 LPS i O polisacharydy, które w połączeniu ze złotym koloidem tworzą stały konjugat na poliestrowej membranie.

Kiedy pasek zostaje zanurzony w zawieszynie kału, rozpuszczony konjugat wędruje z próbka przez powierzchnię membrany, gdzie wchodzi w kontakt z anti-*E.coli* O157 monoklonalnym przeciwciałem zaadsorbowanym na nitrocelulozie. Jeśli próbka zawiera *E.coli* O157, to kompleks anti-*E.coli* O157 - konjugat zatrzymuje się w miejscu, w którym na membranie umieszczony jest na stałe odczynnik anti-*E.coli* O157. Rezultat - w postaci ciemnoczerwonej linii tworzącej się na pasku - pojawia się w ciągu 15 minut. Roztwór kontynuując wędrować, napotyka drugi odczynnik i wiąże nadmiar konjugatu, tworząc w ten sposób drugą ciemnoczerwoną linię.

Test jest nakierowany na wykrywanie *E.coli* O157 w kale po minimum 8 godzinnej inkubacji w pożywce mTSB + Novobiocina.

III. ODCZYNNIKI I MATERIAŁY

Każdy zestaw zawiera:

1. O157 Coli-Strip (20)

Każdy pasek jest uczulony mysim anti-*E.coli* O157 monoklonalnym przeciwciałem swoistym dla *E.coli* O157 LPS i O polisacharydów oraz specyficznym odczynnikiem powodującym tworzenie się linii kontrolnej. Odczynnik oczyszczony na białku A zostały zaadsorbowane na nitrocelulozie. Konjugat anti-*E.coli* O157 został utworzony z monoklonalnego przeciwciała skierowanego przeciw LPS O polisacharydom, które po oczyszczeniu na białku A zostało połączone z cząsteczkami złotego koloidu.

Paski umieszczone są w pojemniku z saszetką pochłaniającą wilgoć.

2. Roztwór buforu (15 ml)

Roztwór soli buforowany do pH 7.5 za pomocą Tris zawierający EDTA, NaN3 (<0.1%), detergent i naładowane białka.

Potrzebne materiały (nie dostarczone):

- 3 lub 5 ml próbki testowe
- eza do pobierania próbek kału

IV. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wszystkie czynności testu muszą być spełnione i wykonane zgodnie z Dobrą Praktyką Laboratoryjną.
- Test O157 Coli-Strip jest przeznaczony tylko do użytku in vitro.
- Należy unikać dotykania obszarów testowych paska.
- Używać rękawiczek w czasie pobierania próbek.
- Powyższe zalecenia są zgodne z DLP.
- Nigdy nie należy używać odczynników pochodzących z różnych serii.
- Pojemnik z paskami musi być dokładnie zamknięty po każdym wyjęciu pasków do badania, ze względu na ich podatność na zawilgocenie. Należy się upewnić czy w środku znajduje się saszetka pochłaniająca wilgoć.
- Dwie zielone linie wyznaczają miejsce adsorpcji przeciwciała. Znikają one w trakcie badania.
- Nie używać buforu gdy jest zanieczyszczony bakteryjnie lub pokryty pleśnią.
- Jakość odczynników nie jest gwarantowana po przekroczeniu ich terminu użytkowania, lub gdy są niewłaściwie przechowywane.

V. PRZECHOWYWANIE

Nie używany zestaw O157 Coli-Strip przechowywany w temp. 4 - 37°C jest trwały do daty ważności podanej na opakowaniu.

Po otwarciu, jeśli zestaw jest przechowywany w temp. 4 - 37°C i suchym otoczeniu zachowuje trwałość przez 15 tygodni.

Zestawu O157 Coli-Strip nie należy zamrażać.

VI. PRÓBKİ

Próbki kału muszą być badane jak najszybciej po ich zebraniu. Jeśli testu nie wykonujemy od razu, próbki mogą być przechowane w temp. 2-8°C przez 24 godziny, a przy dłuższym przechowywaniu należy je zamrozić do -20°C.

5 do 10% kału rozcieńczyć wodą + 0.9% NaCl. 1 ml tak przygotowanej zawiesziny dodać do 10 ml pożywki sporządzonej z mTSB + Novobiocina (20mg/L) i inkubować przez 8 godzin w 37 lub 42°C. Należy się upewnić, że próbka nie została poddana działaniu formaldehydu lub jego pochodnych.

VII. WYKONANIE

Przygotowanie:

Jeśli zestaw O157 Coli-Strip był przechowywany w temp. 4°C, należy przed rozpoczęciem badania doprowadzić wszystkie odczynniki do temperatury pokojowej. Napisać nazwisko pacjenta lub numer próbki na probówce testowej (zaplanować po jednej probówce na próbkę). Umieścić oznakowane próbki w statywie.

Wykonanie:

1. Odmierzyć 0.25 ml czyli 8 kropli roztworu buforu do każdej próbki.
2. Dodać taką samą objętość czyli 0.25 ml próbki (po inkubacji w pożywce)
3. Wymieszać do uzyskania homogennej zawiesziny.
4. Zanurzyć uczulony pasek w kierunku wyznaczonym przez strzałkę.
5. Pozostawić na 15 minut.

Próbki mocno pozytywne będą wykrywane w ciągu 10 minut.

Aby uniknąć rozpuszczenia koloidalnego złotego konjugatu w roztworze, należy uważać by nie zanurzyć paska powyżej linii umiejscowionej pod strzałką.

VIII. INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wyniki interpretowane są następująco:

1 górna linia = test negatywny

2 linie = test pozytywny

brak linii = test nieważny*

* Brak górnej linii, która jest linią kontrolną, unieważnia wynik testu. W takim przypadku badanie należy powtórzyć.

W celu przechowania wykonanych testów należy wysuszyć pasek po usunięciu nadmiaru absorbentu, który zbiera się na dole paska. Po wysuszeniu, wokół linii testowej może pojawić się słabo widoczny cień.

IX. KONTROLA JAKOŚCI

Zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej zalecane jest regularne sprawdzanie jakości testu, dostosowując je do laboratoryjnych wymagań.

Pozytywna kontrola jest gotowa bezpośrednio do użycia bez potrzeby inkubacji w buforze.

X. CHARAKTERYSTYKA TESTU

A. Limit wykrywalności:

Granica wykrywalności testu O157 Coli-Strip dla *E.coli* O157 jest $\pm 5 \cdot 10^4$ CFU/mL po 8 godzinnej inkubacji w mTSB + Novobiocina.

Interakcje:

Nie stwierdzono oddziaływania na wyniki następujących czynników patogennych:

Acinetobacter Iwoffii, *Campylobacter jejuni*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Yersinia enterocolitica* O1, *Yersinia enterocolitica* O3, *Yersinia enterocolitica* O9, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori*, *E.coli* O117 :H7, *E. coli* O55 :H7, *E. coli* O157 VT neg (EH431), *E. coli* O 157 VT neg (EH546), *E. coli* O157 :H19, *E. coli* O7 :H1, *E. coli* O116 :H -, *E. coli* K99, Rotavirus, Adenovirus (A to F groups), Adenovirus 40/41, *Cryptosporidium parvum*, *Escherichia hermani*, *Brucella melitensis*, *Brucella abortus*, *Giardia*, *Salmonella enteritidis*, *Aeromonas hydrophila*.

Badanie reaktywności zostało przeprowadzone na oczyszczonych patogenach i okazało się pozytywne dla: *Staphylococcus aureus* w stężeniu 10^4 cfu/ml.

XI. OGRANICZENIA

Wyniki testów muszą być porównywane z innymi dostępnymi klinicznymi objawami i laboratoryjnymi informacjami. Pozytywny wynik testu nie wyklucza możliwości obecności innych patogenów.

Test O157 Coli-Strip jest skriningowym testem ostrej fazy. Próbkę kału zebrane po jej zakończeniu mogą zawierać miana antygeny poniżej progu wykrywalności testu.

Wytwórca

Coris BioConcept

Science Park - CREALYS

Tel : +32(0)81.719.917

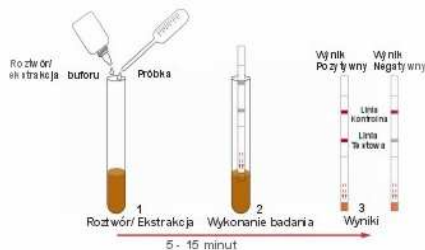
Rue Jean Sonet 4,

Fax : +32(0)81.719.919

B - 5032 GEMBLOUX E-mail:info@corisbio.com

BELGIUM <http://www.corisbio.com>

IFU-5413/EN Rev : 01



Wydanie instrukcji: Kwiecień 2005

Aktualizacja: 01.04.2007