

ECO-F23

E. coli O157 Antigén Gyorstesztkészlet (Széklet)

RENDEL TETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

Az E. coli O157 Antigén Gyorstesztkészlet egy in vitro immunvizsgálat a shiga-toxin E. coli O157 antigén közvetlen és kvalitatív kimutatására. Célja, hogy segítse az E. coli O157 fertőzés gyors diagnosztizálását. Az emberi székletminták közvetlenül felhasználhatók a tesztre. A negatív eredmények nem zárják ki az E. coli O157 fertőzést, és ezt tenyésztéssel vagy molekuláris módszerrel kell megerősíteni. A teszt kizárólag professzionális használatra készült.

BEVEZETÉS

Az *Escherichia coli* (kólibaktérium) az *Escherichia* nemzetséghez tartozó Gram-negatív, fakultatív, anaerob baktérium, amely általában a bélrendszerben és szakaszában normál bélflóraként található¹. Noha számos különböző szerotípust azonosítottak, bizonyos E. coli törzsek más baktériumfajokból származó toxinok géneit bakteriofág plazmidokon keresztül szerezték meg. Az E. coli Shiga-toxin csoportjai (STEC) olyan élelmiszer-eredetű kórokozók, amelyek gyomor-bélrendszeri betegségeket, vérzéses vastagbélgyulladás, hemolitikus urémias szindrómát (HUS) és halált okoznak, bár a fertőzés tünetmentes is lehet. A megbetegedés és halálos aránya gyermekek, csecsemők és idősek esetében különösen magas².

Az E. coli O157: A H7 egyike a járványkitörésekben leggyakrabban érintett STEC-szerotípusoknak³. A fertőzés széklet-orális úton történik, és a legtöbb betegség a szennyezett nyers zöld zöldségek és az elégtelenül főtt hús terjesztésén keresztül történik⁴. A legtöbb szorbitot nem fermentáló E. coli O157 mozgékony és rendelkezik H7 antigénnel. A mozgékonyaság azonban nehezen előídezhető, ami a H7 antigén kimutatásának kudarcát eredményezheti. Emellett az E. coli O157 szorbitot-fermentációt nem végző törzsei néha mozgásképtelenek vagy nemtipizálható ostorantigénnel rendelkeznek (O157: H-). Ezért a H7 antigén meghatározása nem szükséges az E. coli O157: H75 törzs klinikai laboratóriumi értékeléséhez⁵.

Az E. coli O157 diagnosztikai módszerei közé tartozik a Sorbitol-MacConkey (SMAC) agarban történő tenyésztés, amelyet megerősítő vizsgálatok követnek⁶. Azonban a tenyésztéses diagnosztika időigényes. Gyorsabb diagnózis felállítása lehetséges az E. coli DNS kivonásával és PCR technikákkal, amelyek gyakran költségesek, és jól képzett személyzetet és fejlett berendezéseket igényelnek⁷. Lehetőség van latex agglutinációs tesztre is, illetve az antitestek detektálására is, mely fejlesztés alatt áll. Mindeközben az egyszerűséget és a gyorsaságot figyelembe véve az enzim immunvizsgálat (EIA) és az immunokromatográfia a O157 antigének vagy toxinok esetében értékes megoldás lehet a járványok vizsgálata során. Az E. coli O157 antigén gyorstesztkészlet kvalitatív laterális áramlású immunvizsgálat a shiga-toxint termelő E. coli O157 azonosítására emberi székletmintából. A teszt a shiga-toxint termelő E. coli O157 antigénekre specifikus, és nem ismert keresztreaktivitás a normál bélflórára vagy más belfertőzésekre.

ELV

Az E. coli O157 antigén gyorstesztkészletet E. coli O157 antigének kimutatására tervezték, a tesztsík színváltozásának vizuális értelmezése alapján. A membrán tesztrégiója (T) Anti-E. coli O157 antitestekkel van bevonva. A mintahígító pufferhez székletmintát adunk, amely úgy van optimalizálva, hogy kivonja az E. coli O157 antigéneket a mintából. A tesztelés során a kivont antigének, ha jelen vannak, a mintalapon lévő színes részecskékkal a konjugált lipopoliszacharid (LPS) elleni antitestekhez kötődnek. A minta a kapilláris hatás révén átvándorol a membránon és kölcsönhatásba lép a membránon lévő reagensekkel, a komplexet pedig az anti-E coli O157 antitestek felfogják a kimutatási zónában. A felesleges színes részecskék a belső ellenőrzési zónában rögzülnek. A színes sáv jelenléte a tesztrégióban (T) az adott antigének pozitív eredményét jelzi, míg hiánya negatív eredményt hoz. A kontroll régióban (C) lévő színes sáv belső eljárási kontrollként működik, jelezzve, hogy megfelelő mennyiségű minta került hozzáadásra, valamint a membrán átszivárgás megtörtént.

KÉSZLET TARTALMA

Biztosított eszközök

- Tesztkazetta
- Mintahígító cső pufferoldattal
- Használati utasítás

Szükséges, de nem biztosított eszközök

- Centrifuga
- Óra, stopper
- Mintagyűjtő konténer
- Eldobható gumikesztyű

ÖVINTÉZKEDESEK

- Csak in vitro diagnosztikai használatra.
- Használat előtt olvassa el a használati utasítást. Az utasításokat figyelmesen el kell olvasni és be kell tartani.
- Ne használja a készletet vagy a készletben lévő eszközöket a lejáratí időn túl.
- A készülék állati eredetű anyagot tartalmaz, ezért potenciális biológiai veszélyforrásként kell kezelni. Ne használja, ha a tasak sérült vagy nyitva van.
- A teszteszközök fóliatásakba vannak csomagolva, amelyek kizárják a nedvességet a tárolás során. Felbontás előtt ellenőrizze az egyes fóliatásakat. Ne használjon olyan eszközöket, amelyeknek fóliatásukja lyukas, vagy ahol a tasak nincs teljesen lezárva. Hibás eredmény adódhat, ha a tesztreagenseket vagy a komponenseket nem megfelelően tárolják.
- Ne használja a mintahígító puffert, ha elszíneződött vagy zavaros. Az elszíneződés vagy a zavarosság a mikrobiális szennyeződés jele lehet.
- A betegminták és a használt E. coli O157 antigén gyorstesztkészlet fertőző ágenseket tartalmazhat, ezért úgy kell kezelni és megsemmisíteni, mintha biológiailag veszélyesek lennének. Minden mintát alaposan össze kell keverni a vizsgálat előtt, hogy a vizsgálat előtt reprezentatív mintát kapjunk.
- Ügyeljen arra, hogy a mintákat a dokumentumban jelzett módon tárolja.
- A lappangási idő befolyásolhatja az érzékenységet és a specifitást, ezért kerülendő.
- Ha a minták és a reagensek nem érik el a szobahőmérsékletet a vizsgálat előtt, az csökkentheti a vizsgálat érzékenységét. A pontatlan vagy nem megfelelő mintavétel, tárolás és szállítás hamis

negatív teszt eredményeket eredményezhet.

VIZSGALATI ELJÁRAS

Használat előtt várja meg, míg a tesztek, minták és/vagy kontrollok elérik a szobahőmérsékletet (15-30 °C).

1. Mintavétel és előkészítés:

1. Használjon tiszta, száraz mintagyűjtő eszközt a mintavételhez. A legjobb eredmény érdekében a vizsgálatot a begyűjtést követő 2 órán belül érdemes elvégezni. *Megjegyzés: A minták 1-2 napig tárolhatók 2-8 °C-on, legfeljebb 3 hónapig -20°C alatt.*

2. Szilárd minták esetén: Óvatosan csavarja le és távolítsa el a mintahígítócső applikátorát úgy, hogy a folyadék ne vesztítsen tartalmából. Gyűjtőn mintát székletfogótól legalább 3 különböző részéből az applikátor segítségével. A szükséges mennyiség hozzávetőlegesen 50 mg, mely ¼ borsónyinak felel meg.

Folyékony minták esetén: Tartsa függőlegesen a csepeztőt, szívja fel a székletmintát, majd adjon 3 cseppet (körülbelül 100 µL) a mintából a mintahígító cső tartalmához.

3. Helyezze vissza az applikátort a tubusba, majd szorosan csavarja vissza a kupakot. Ügyeljen arra, hogy ne törje le a hígítócső hegyét.

4. Rázza össze a mintagyűjtő csövet, hogy a minta és a hígító puffer alaposan összekeveredjen.

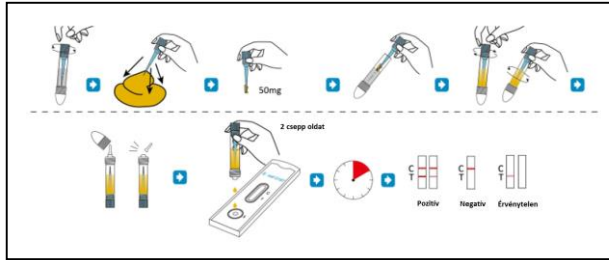
2. Tesztelés:

1. Vegye ki a tesztet a lezárt tasakból, és helyezze tiszta, vízszintes felületre. Jelölje meg a tesztkazettát a beteg nevével vagy kontroll azonosítójával. A legjobb eredmény érdekében a vizsgálatot egy órán belül érdemes elvégezni.

2. Egy papírzsomborodó segítségével törje le a hígítócső hegyét! Tartsa a csövet függőlegesen és csepegtessen 2 csepp oldatot a tesztkazetta mintáüregébe (S). **Ügyeljen arra, hogy ne kerüljenek légbuborékok a mintavételi üregbe (S), és ne érje oldal az eredményt jelző ablakot.** Amint a teszt működni kezd, a szín átvándorol a membránra.

3. Várja meg, amíg a színes sáv(ok) megjelennek. Az eredmény 10 percen belül leolvasható. A teszt eredmény 20 perc után érvénytelennek minősül.

Megjegyzés: Ha a minta nem kezd átszivárogni (részecskék jelenléte), rázza össze a kivont mintát az extrakciós puffer folyadékban. Gyűjtőn 100 µL felülőszót, majd applikálja egy új tesztkazetta minta üregébe (S) és kezdje el újra folyamatot, a fent említett utasításokat követve.



AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE

POZITÍV: Két színes sáv jelenik meg a membránra. Egy sáv jelenik meg a kontroll régióban (C), egy másik sáv pedig a teszt régióban (T).

NEGATÍV: Csak egy színes sáv jelenik meg a kontroll területen (C). Nem jelenik meg látható színes sáv a teszterületen (T).

ÉRVENYTELEN: A kontrollcsík nem jelenik meg. Minden olyan vizsgálat eredményét, amely a megadott leolvadási idő alatt nem hozott létre kontrollcsíkot, érvénytelennek kell tekinteni. Kérjük, tekintse át az eljárást, és ismételje meg egy új teszttel. Ha a probléma továbbra is fennáll, azonnal hagyja abba a készlet használatát, és lépjen kapcsolatba a helyi forgalmazóval.

JEGYZET:

- A szín intenzitása a vizsgálati tartományban (T) a mintában lévő analitik koncentrációjától függően változhat. Ezért a teszterületet bármely színárnyalatát pozitívnak kell tekinteni. Vegye figyelembe, hogy ez egy kvalitatív teszt, és nem tudja meghatározni az analitik koncentrációját a mintákban.
- Az elégtelen mintaterület, a helytelen működési eljárás vagy a lejárt tesztek a legvalószínűbb okai a készlet megbíhibodásának.

MINŐSEGELLENŐRZÉS

A teszt belső eljárási ellenőrzéseket tartalmaz. A kontroll régióban (C) megjelenő színes sáv belső pozitív eljárási kontrollnak minősül, amely megerősíti a megfelelő mintaterületet és a helyes eljárási technikát. A felhasználónak meg kell győződnie arról, hogy a „C” vonalnál található színes sáv látható, mielőtt elolvassná az eredményt.

A helyes laboratóriumi gyakorlat pozitív és negatív külső kontrollok tesztelését javasolja, hogy megbizonyosodjon arról, hogy a tesztreagensek működnek, és a tesztet megfelelően hajtják végre.

A VIZSGÁLAT KORLATAI

1. Az E. coli O157 antigén gyorstesztkészlet professzionális in vitro diagnosztikai használatra készült, és csak a shiga-toxin E. coli O157 kvalitatív kimutatására használható. A pozitív sáv szintenizálás nem érkelhető „kvantitatív” vagy félkvantitatív”.

2. Élő és életképtelen E. coli O157 baktériumok egyaránt kimutathatók az E. coli O157 antigén gyorstesztkészlet segítségével.

3. Mint minden diagnosztikai vizsgálat esetében, a végleges klinikai diagnózis nem egyetlen vizsgálat eredményén alapul, hanem az orvosnak kell azt felállítania, miután az összes klinikai és laboratóriumi leletet kiértékelte.

4. A VIZSGÁLATI ELJÁRÁS és AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE részek be nem tartása hátrányosan befolyásolhatja a teszt teljesítményét és/vagy érvénytelenítheti a vizsgálati eredményt.

5. Az ezzel a vizsgálatlall kapott eredményeket, különösen gyenge, nehezen értelmezhető tesztvonalak esetén, az orvos rendelkezésre álló egyéb klinikai információkkal együtt kell értelmezni.

6. Nagy dózistú „horog-effektus” jelentkezheth, ahol a tesztásv szintenizetása az antigén koncentrációjának növekedésével csökken. Ha „horog-effektus” gyanúja merül fel, a minták hígítása növelheti a tesztásv szintenizetását.

TELJESÍTMÉNY JELLEMZŐK

Analitikai érzékenység (észlelési határ)

Az E. coli O157 antigén gyorsteszt kimutatási határa 2 x 104 CFU/ml E. coli O157 esetén.

Klinikai érzékenység és specifitások

413 beteg székletmintáját gyűjtötték össze és tesztelték az E. coli O157 antigén gyorstesztrel és egy másik kereskedelmi forgalomban lévő E. coli O157 antigén gyorstesztrel. Az összehasonlítás a következő táblázatban látható:

Referencia	E. coli O157Antigén Gyorsteszt		
	Pozitív	Negatív	Összesen
Pozitív	152	0	152
Negatív	1	260	261
Összesen	153	260	413

Relatív érzékenység: >99,9% (97,5% ~ 100%)*

Relatív specifitás: 99,6% (97,9% ~ 99,9%)*

Teljes egyezés: 99,8% (98,6% ~ 100%)*

*95%-os megbízhatósági intervallum

Keresztreakció

A következő organizmusokkal való keresztreaktivitást 1,0 x 109 organizmus/ml-nél vizsgálták. A következő organizmusok negatívnak bizonyultak az E. coli O157 antigén gyorstesztkészlet (széklet) tesztelésével:

<i>Salmonella</i> spp	<i>Campylobacter</i> spp	<i>Shigella</i> spp
<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Norovirus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Clostridium difficile</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Rotavirus</i>	<i>Adenovirus</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>C</i> Csoport <i>Streptococcus</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>B</i> Csoport <i>Streptococcus</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida albicans</i>	

IRODALMI JEGYZEK

- Singleton P (1999). Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine (5th ed.). Wiley. pp. 444–454.
- Griffin PM, Ostroff SM, Tauxe RV, Green KD, Wells JG, Lewis JH et al. Illnesses associated with *Escherichia coli* O157:H7 infections. A broad clinical spectrum. Ann Intern Med. 1988; 109:705-712.
- Kay BA, Griffin PM, Stockbine VA, Wells JG. Too fast food: Bloody diarrhea and death from *Escherichia coli* O157:H7. Clin Micro Newsletter. 1994; 16:17-19.
- Manley WA, Walford JR, Harrison JF, McKeek GL. ImmunoCard STAT! (ICS) *E. coli* O157:H7 test in a suspect waterborne outbreak in Wyoming. ASM, Abstract submitted for 1999 General Meeting. 1998.
- Tarr P. *Escherichia coli* O157:H7: Clinical, diagnostic and epidemiological aspects of human infection. ClinInf Dis. 1995; 20:1-10.
- March SB, Ratnam S. Sorbitol-MacConkey medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J Clin Microbiol 1986;23:869-872.
- Ibekwe, A.M. and Grieve, C.M. (2003) Detection and quantification of *Escherichia coli* O157:H7 in environmental samples by real-time PCR. Journal of Applied Microbiology 94, 421–431.

SZIMBOLUMOK JEGYZEKE

ρ	Katalógusszám	0	Hőmérséklet korlátozás
ι	Olvassa el a használati utasítást	Λ	Batch kód
I	In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz	ε	Felhasználható
μ	Gyártó	T	<n> tesztekhez elegendő mennyiséget tartalmaz
σ	Ne használja újra	A	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben
γ	CE-jelölés a 98/79/EC IVD orvostechnikai eszközökről szóló irányelv szerint		

Assure Tech. (Hangzhou) Co., Ltd.
Building 4, No. 1418-50, Moganshan Road,
Gongshu District, Hangzhou,
310011 Zhejiang, P.R. China

Lotus NL B.V.
Koningin Julianaplein 10, le Verd,
2595AA, The Hague, Netherlands

Y

A