ECO-F23

E. coli O157 Antigen-Schnelltestkassette (Stuhl)

VERWENDUNGSZWECK

Die E. coli O157 Antigen-Schnelltestkassette ist ein In-vitro-Immunoassay für den direkten és qualitativen Nachweis von Antigenen shigatoxin-bildender E. coli O157. Sie dient der Unterstützung der Schnelldiagnose einer E. coli O157-Infektion. Menschliche Stuhlproben können direkt mit dem Test verwendet werden. Negative Ergebnisse schließen eine E. coli O157-Infektion nicht aus und sollten durch Kulturverfahren oder molekularbiologische Methoden bestätigt werden. Der Test ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt.

EINLEITUNG

Escherichia coli ist ein gramnegatives, fakultativ anaerobes Bakterium der Gattung Escherichia, das üblicherweise im unteren Darmtrakt von Endothermen als normale Darmflora vorkommt[1]. Während viele verschiedene Serotypen identifiziert wurden, haben bestimmte Stämme von E. coli Gene für Toxine von anderen Bakterienarten über Bakteriophagen-Plasmide erworben. Shigatoxin-bildende E. coli-Gruppen (STEC) sind lebensmittelbedingte Pathogene, die Magen-Darm-Erkrankungen, hämorrhagische Kolitis, das hämolytisch-urämische Syndrom (HUS) und den Tod verursachen können, obwohl Infektionen auch asymptomatisch verlaufen können. Die Morbiditäts- und Mortalitätsraten bei Kindern, Säuglingen und älteren Menschen sind besonders hoch[2].

E. coli O157:H7 ist einer der STEC-Serotypen, die am häufigsten mit Ausbrüchen in Verbindung gebracht werden[3]. Die Erreger können sich über den fäkal-oralen Weg verbreiten und wurden auch auf kontaminiertes rohes Blattgemüse, Wasser und unzureichend gegartes Fleisch zurückgeführt. Die Übertragung erfolgt fäkal-oral, und die meisten Erkrankungen traten durch die Verteilung von kontaminiertem rohem grünem Gemüse und unzureichend gegartem Fleisch auf[4]. Die meisten Sorbitol-nicht-fermentierenden E. coli O157 sind beweglich und besitzen das H7-Antigen. Die Beweglichkeit kann jedoch schwer hervorzurufen sein, was dazu führt, dass das H7-Antigen nicht nachgewiesen wird. Zudem ist ein Sorbitol-nicht-fermentierender Stamm von E. coli O157 gelegentlich entweder unbeweglich oder beweglich mit einem nicht-typisierbaren Geißel-Antigen (O157:H-). Daher ist die Bestimmung des H7-Antigens für die klinische Laboruntersuchung eines E. coli O157:H7-Stammes nicht erforderlich[5].

Diagnostische Methoden für E. coli O157 umfassen die Kultur auf Sorbitol-MacConkey-Agar (SMAC) mit anschließender Bestätigungsprüfung[6]. Eine kulturelle Diagnose ist jedoch zeitaufwendig. Eine schnellere Diagnose ist durch rasche E. coli-DNA-Extraktion plus PCR-Techniken möglich, was jedoch oft eine teure Methode ist und gut geschultes Personal sowie eine hochentwickelte Ausrüstung erfordert[7]. Ein Latex-Agglutinationstest ist ebenfalls machbar, und der Antikörpernachweis befindet sich in der Entwicklung. Aufgrund der Einfachheit und Schnelligkeit können unterdessen Enzym-Immunoassays (EIA) und die Immunchromatographie für O157-Antigene oder Toxine bei Ausbruchsuntersuchungen wertvoll sein. Die E. coli O157 Antigen-Schnelltestkassette ist ein qualitativer Lateral-Flow-Immunoassay für den Nachweis von Shigatoxin-bildenden E. coli O157 in menschlichen Stuhlproben. Der Test ist spezifisch für Shigatoxin-bildende E. coli O157-Antigene, ohne bekannte Kreuzreaktivität mit der normalen Flora oder anderen intestinalen Pathogenen.

TESTPRINZIP

Die E. coli O157 Antigen-Schnelltestkassette weist E. coli O157-Antigene durch die visuelle Interpretation der Farbentwicklung nach. Anti-E. coli O157-Antikörper sind auf der Testregion (T) der Membran immobilisiert. Eine Stuhlprobe wird in den Probenverdünnungspuffer gegeben, der für die Extraktion der E. coli O157-Antigene aus der Probe optimiert ist. Während des Tests binden die extrahierten Antigene – sofern vorhanden – an Anti-Lipopolysaccharid (LPS)-Antikörper, die an farbige Partikel auf dem Probenpad konjugiert sind. Während die Probe durch Kapillarwirkung entlang des Streifens migriert und mit den Reagenzien auf der Membran interagiert, wird der Komplex von Anti-E. coli O157-Antikörpern in der Nachweiszone abgefangen. Überschüssige farbige Partikel werden in der internen Kontrollzone eingefangen.

Das Vorhandensein einer farbigen Bande in der Testregion (T) zeigt ein positives Ergebnis für die jeweiligen Antigene an, während ihr Fehlen auf ein negatives Ergebnis hindeutet. Eine farbige Bande in der Kontrollregion (C) dient als Verfahrenskontrolle und zeigt an, dass ein ausreichendes Probenvolumen hinzugefügt wurde und die Dochtwirkung der Membran funktioniert.

MATERIALIEN

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- Einzeln verpackte Testkassetten
- Probenverdünnungsröhrchen mit Puffer
- Gebrauchsanweisung

ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE MATERIALIEN

- Zentrifuge
- Probenentnahmebehälter
- Tropfer
- Uhr, Timer oder Stoppuhr
- Einweg-Latexhandschuhe

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur für die In-vitro-Diagnostik geeignet.
- Vor Gebrauch die Packungsbeilage lesen. Die Anweisungen müssen sorgfältig gelesen und befolgt werden.
- Das Kit oder die Komponenten nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Die Testkassette enthält Material tierischen Ursprungs und sollte als potenzielles biologisches Risiko behandelt werden. Nicht verwenden, wenn der Beutel beschädigt oder geöffnet ist.
- Die Testkassetten sind in Folienbeuteln verpackt, die Feuchtigkeit während der Lagerung ausschließen. Prüfen Sie jeden Folienbeutel vor dem Öffnen. Verwenden Sie keine Kassetten, die Löcher in der Folie aufweisen oder bei denen der Beutel nicht vollständig versiegelt wurde. Bei unsachgemäßer Lagerung der Testreagenzien oder Komponenten können fehlerhafte Ergebnisse auftreten.
- Verwenden Sie den Probenverdünnungspuffer nicht, wenn er verfärbt oder getrübt ist. Verfärbung oder Trübung können Anzeichen für eine mikrobielle Kontamination sein.
- Patientenproben und gebrauchte E. coli O157 Antigen-Schnelltestkassetten können Infektionserreger enthalten und sollten wie biologisches Risikomaterial gehandhabt und entsorgt werden. Alle Proben müssen vor dem Testen gründlich gemischt werden, um eine repräsentative Probe vor der Durchführung zu gewährleisten.
- Es sollte darauf geachtet werden, die Proben wie in diesem Dokument angegeben zu lagern.
- Jede Abweichung unter oder über die festgelegten Inkubationszeiten kann die Sensitivität und Spezifität beeinträchtigen und sollte vermieden werden.
- Wenn Proben und Reagenzien vor dem Testen nicht auf Raumtemperatur gebracht werden, kann dies die Testsensitivität verringern. Ungenaue oder unsachgemäße Probenentnahme, Lagerung und Transport können zu falsch-negativen Testergebnissen führen.

LAGERUNG UND STABILITÄT

- Lagern Sie die E. coli O157 Antigen-Schnelltestkassette bei 2–30 °C, wenn sie nicht in Gebrauch ist.
- NICHT EINFRIEREN.
- Die Kit-Inhalte sind bis zu den auf der Außenverpackung und den Behältern angegebenen Verfallsdaten stabil.
- Es sollte darauf geachtet werden, die Komponenten des Kits vor Kontamination zu schützen. Nicht verwenden, wenn Anzeichen einer mikrobiellen Kontamination oder Ausfällung vorliegen. Eine biologische Kontamination von Dosiergeräten, Behältern oder Reagenzien kann zu falschen Ergebnissen führen.

TTESTDURCHFÜHRUNG

Bringen Sie Tests, Proben, Puffer und/oder Kontrollen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (15–30 °C).

1. Probenentnahme und Vorbehandlung:

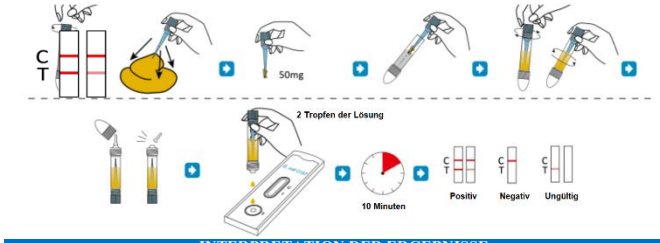
1. Verwenden Sie für die Probenentnahme saubere, trockene Probenbehälter. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn der Test innerhalb von 2 Stunden nach der Entnahme durchgeführt wird. Hinweis: Im Probenbehälter gesammelte Proben können 1–2 Tage bei 2–8 °C oder 3 Monate bei -20 °C gelagert werden.
2. Für feste Proben: Schrauben Sie den Applikator des Verdünnungsröhrchens ab und nehmen Sie ihn heraus. Achten Sie darauf, keine Lösung aus dem Röhrchen zu verschütten oder zu verspritzen. Sammeln Sie die Proben, indem Sie den Applikatorstab an mindestens 3 verschiedenen Stellen in den Stuhl einführen, um etwa 50 mg Stuhl (entspricht 1/4 einer Erbse) zu entnehmen. Für flüssige Proben: Halten Sie die Pipette vertikal, saugen Sie die Stuhlprobe auf und übertragen Sie dann etwa 100 µL der flüssigen Probe in das Probenverdünnungsröhrchen.
3. Setzen Sie den Applikator wieder in das Röhrchen ein und schrauben Sie die Kappe fest zu. Achten Sie darauf, die Spitze des Verdünnungsröhrchens nicht abzubrechen.
4. Schütteln Sie das Probenentnahmeröhrchen, um die Probe und den Verdünnungspuffer gründlich zu mischen.

2. Testdurchführung

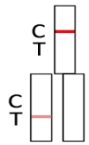
1. Nehmen Sie die Testkassette aus ihrem versiegelten Beutel und legen Sie sie auf eine saubere, ebene Fläche. Beschriften Sie den Test mit der Patienten- oder Kontrollidentifikation. Um ein optimales Ergebnis zu erzielen, sollte der Test innerhalb von 2 Stunden durchgeführt werden.
2. Brechen Sie die Spitze des Verdünnungsröhrchens mit einem Papiertaschentuch ab. Halten Sie das Röhrchen vertikal und geben Sie 2 Tropfen der Lösung in die Probenvertiefung (S) der Testkassette. Vermeiden Sie den Einschluss von Luftblasen in der Probenvertiefung (S) und lassen Sie keine Lösung in das Sichtfenster gelangen.

3. Warten Sie auf das Erscheinen der farbigen Bande(n). Das Ergebnis sollte nach 10 Minuten abgelesen werden. Interpretieren Sie das Ergebnis nicht nach mehr als 20 Minuten.

Hinweis: Wenn die Probe nicht migriert (Vorhandensein von Partikeln), zentrifugieren Sie die im Probenverdünnungsröhrchen enthaltenen Proben. Entnehmen Sie 100 µL des Überstands, geben Sie diesen in die Probenvertiefung (S) einer neuen Testkassette und beginnen Sie gemäß den oben genannten Anweisungen von vorn**.**



INTERPRETATION DER ERGEBNISSE



POSITIV: Zwei farbige Banden erscheinen auf der Membran. Eine farbige Bande erscheint im Kontrollbereich (C) und eine farbige Bande erscheint im Testbereich (T).

NEGATIV: Es erscheint nur eine farbige Bande im Kontrollbereich (C). Im Testbereich (T) ist keine erkennbare farbige Bande sichtbar.

UNGÜLTIG: Die Kontrollbande (C) erscheint nicht. Ergebnisse von Tests, die zur angegebenen Ablesezeit keine Kontrollbande gebildet haben, müssen verworfen werden. Bitte überprüfen Sie den Durchführungsgang und wiederholen Sie den Test mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterhin besteht, stellen Sie die Verwendung des Kits sofort ein und kontaktieren Sie Ihren örtlichen Händler.

HINWEIS:

1. Die Farbintensität im Testbereich (T) kann je nach Konzentration der in der Probe vorhandenen Analyten variieren. Daher sollte jede Farbschattierung im Testbereich als positiv betrachtet werden. Beachten Sie, dass es sich hierbei um einen rein qualitativen Test handelt, der die Konzentration der Analyten in der Probe nicht bestimmen kann.
2. Ein unzureichendes Probenvolumen, eine fehlerhafte Durchführung oder abgelaufene Tests sind die wahrscheinlichsten Gründe für das Ausbleiben der Kontrollbande.

QUALITÄTSKONTROLLE

- Die E. coli O157 Antigen-Schnelltestkassette verfügt über integrierte (verfahrenstechnische) Kontrollen. Jede Testkassette besitzt eine interne Standardzone, um einen ordnungsgemäßen Probenfluss zu gewährleisten. Der Anwender sollte vor dem Ablesen des Ergebnisses bestätigen, dass eine farbige Bande an der „C"-Linie vorhanden ist.
- Gute Laborpraxis (GLP) empfiehlt das Testen von positiven und negativen externen Kontrollen, um sicherzustellen, dass die Testreagenzien ordnungsgemäß funktionieren und der Test korrekt durchgeführt wurde.

BESCHRÄNKUNGEN DES TESTS

1. Die E. coli O157 Antigen-Schnelltestkassette ist nur für den professionellen In-vitro-diagnostischen Gebrauch bestimmt und sollte ausschließlich zum qualitativen Nachweis von Shiga-Toxin-bildenden E. coli O157 verwendet werden. Die Farbintensität einer positiven Bande darf nicht als „quantitativ oder semiquantitativ" bewertet werden.
2. Sowohl lebensfähige als auch nicht lebensfähige E. coli O157-Bakterien sind mit der E. coli O157 Antigen-Schnelltestkassette nachweisbar.
3. Wie bei allen diagnostischen Tests sollte eine endgültige klinische Diagnose nicht auf dem Ergebnis eines einzelnen Tests basieren, sondern erst vom Arzt nach Auswertung aller klinischen und labortechnischen Befunde gestellt werden.
4. Die Nichtbeachtung der TESTDURCHFÜHRUNG und der INTERPRETATION DER ERGEBNISSE kann die Testleistung beeinträchtigen und/oder das Testergebnis ungültig machen.
5. Die mit diesem Assay erzielten Ergebnisse, insbesondere im Falle schwacher Testlinien, die schwer zu interpretieren sind, sollten in Verbindung mit anderen dem Arzt zur Verfügung stehenden klinischen Informationen verwendet werden.
6. Ein Hochdosis-Hook-Effekt kann auftreten, bei dem die Farbintensität der Testbande abnimmt, wenn die Antigenkonzentration ansteigt. Wenn ein „Hook-Effekt" vermutet wird, kann eine Verdünnung der Proben die Farbintensität der Testbande erhöhen.

LEISTUNGSMERKMALE

Analytische Sensitivität (Nachweisgrenze): Die Nachweisgrenze der E. coli O157 Antigen-Schnelltestkassette beträgt 2×10^4 KBE/ml (Koloniebildende Einheiten pro Milliliter) für E. coli O157.Klinische

Sensitivität und Spezifität: Es wurden 413 Stuhlproben von Patienten gesammelt und sowohl mit der E. coli O157 Antigen-Schnelltestkassette als auch mit einem kommerziellen E. coli O157 Antigen-Schnelltest getestet. Der Vergleich für alle Probanden ist in der folgenden Tabelle dargestellt:

	***E. coli* O157Antigen Schnelltest**		
Referenz	**Positiv**	**Negativ**	**Gesamt**
Positiv	152	0	152
Negativ	1	260	261
Gesamt	153	260	413

Relative Sensitivität: >99,9% (97,5%~100%)*
Relative Spezifität: 99,6% (97,9%~99,9%)*
Gesamtübereinstimmung: 99,8% (98,6%~100%)*
***95% Konfidenzintervall**

KREUZREAKTIVITÄT Die Kreuzreaktivität mit den folgenden Organismen wurde bei einer Konzentration von $1{,}0 \times 10^9$ Organismen/ml untersucht. Die folgenden Organismen wurden bei Tests mit der E. coli O157 Antigen-Schnelltestkassette (Stuhl) als negativ befunden:

Salmonella spp	*Campylobacter* spp	*Shigella* spp
Helicobacter pylori	*Enterococcus faecalis*	*Enterococcus faecium*
Norovirus	*Proteus mirabilis*	*Clostridium difficile*
Staphylococcus aureus	*Rotavirus*	*Adenovirus*
Pseudomonas aeruginosa	*Neisseria meningitidis*	*Neisseria gonorrhea*
Group C Streptococcus	*Gardnerella vaginalis*	*Group B Streptococcus*
Klebsiella pneumoniae	*Candida albicans*	

LITERATURHINWEISE

1. Singleton P (1999). Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine (5th ed.). Wiley. pp. 444–454.
2. 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.
3. 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.
4. Manley WA, Walford JR, Harrison JF, McKee GL. ImmunoCard STAT! (ICS) *E. coli* O157:H7 test in a suspect waterborne outbreak in Wyoming. ASM, Abstract submitted for 1999 General Meeting. 1998.
5. Tarr P. *Escherichia coli* O157:H7: Clinical, diagnostic and epidemiological aspects of human infection. ClinInf Dis. 1995; 20:1-10.
6. 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.
7. 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.

SYMBOLGLOSSAR

ρ	Katalognummer	0	Temperaturbegrenzung
ι	Gebrauchsanweisung beachten	Λ	Chargencode
I	In-vitro-Diagnostikum	ε	Verwendbar bis
µ	Hersteller	T	Ausreichend für <n> Tests
σ	Nicht wiederverwenden	A	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
Y	CE-Kennzeichnung gemäß IVD-Richtlinie 98/79/EG		

Y µ A

Assure Tech. (Hangzhou) Co., Ltd.
Building 4, No. 1418-50, Moganshan Road,
Gongshu District, Hangzhou,
310011Zhejiang, V.R. China
contact@diareagent.com

Importeur: Carbon Web Kft., 5600
Békéscsaba, Balassa utca 16., Ungarn,
carbonmedoffice@gmail.com
www.carbonmedical.de

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