ImmunoCard STAT! EHEC

Rychlý test pro Shiga toxiny 1 a 2 v lidské stolici

REF **751630** IVD **Rx Only**

URČENÝ ÚČEL POUŽITÍ
Immuno*Card* STAT! EHEC je rychlý imunochromatografický test pro kvalitativní detekci Shiga toxinů 1 a 2 (také nazývaných verotoxiny) produkovaných *E. coli* v kulturách derivovaných z klinických vzorků stolice. Test Immuno*Card* STAT! EHEC se používá společně s klinickými příznaky pacienta a dalšími laboratorními testy a napomáhá diagnostice onemocnění způsobených infekcemi enterohemoragickou *E. coli* (EHEC).

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ TESTU
Ze všech lidských patogenů *E. coli* získaly kmeny *E. coli* produkující Shiga toxiny v posledních letech na významu.[1-11] Skupina EHEC, do níž patří vysoce patogenní sérovary O157:H7, O26, O103, O111, O145 a další kmeny, si žádá mimořádnou pozornost. Produkce Shiga toxinů je tím nejčastějším společným kritériem pro detekci této skupiny bakterií. Shiga toxiny lze klasifikovat do dvou hlavních kategorií: Shiga toxin 1 (ST1) a Shiga toxin 2 (ST2). Kmeny EHEC mohou produkovat buď ST1, nebo ST2, anebo ST1 a ST2 současně. Bakterie EHEC jsou schopné vyvolávat život ohrožující onemocnění, zejména u malých dětí, starších osob nebo pacientů s narušenou funkcí imunitního systému. Hlavní zdroje infekcí jsou kontaminované, syrové nebo nedostatečně tepelně zpracované potraviny živočišného původu, např. maso a mléčné výrobky. Rezervoáry bakterií EHEC představuje skot, ovce a kozy a k šíření dochází prostřednictvím trusu. Tyto mikroorganismy mohou vnikat do potravin během zpracovávání masných a mléčných produktů, jestliže nejsou dodrženy dostatečné hygienické standardy. Výskyt infekcí z potravin způsobených kmeny *E. coli* produkujících Shiga toxiny vyžaduje spolehlivé a rychlé metody detekce. Kromě tradičních metod kultivace jsou stále užitečnější imunologické techniky díky zlepšující se specificitě a citlivosti. Immuno*Card* STAT! EHEC je imunologický diagnostický test založený na principu imunochromatografického laterálního průtoku.

BIOLOGICKÉ PRINCIPY
Immuno*Card* STAT! EHEC je rychlý imunochromatografický test využívající monoklonální protilátky označené červeně zbarvenými částečkami zlata. Testovací prostředek má kruhový otvor pro vzorek a oválné okénko pro test (Toxin 1, Toxin 2) a kontrolu (Control).
1. Vzorek se na chromatografický papír aplikuje skrz kruhový otvor pro vzorek (Sample)
2. Vzorek je absorbován přes plošku do reakční zóny obsahující koloidní protilátky označené zlatem specifické pro Shiga toxiny.
3. Jakýkoli přítomný antigen Shiga toxinu (ST1 a ST2) vytváří komplexy se zlatem označenou protilátkou a migruje skrz plošku, dokud nedorazí do vazebných zón v testovací oblasti (Toxin 1, Toxin 2).
4. Vazebné zóny (Toxin 1 a Toxin 2) obsahují další protilátku proti ST1 nebo ST2, která imobilizuje veškerý přítomný komplex Shiga toxin / protilátka. Díky značení zlatem se poté formuje zřetelná červená linka.
5. Zbytek vzorku dále migruje do další vazebné zóny v rámci kontrolní zóny, kde se zformuje další zřetelná červená linka (pozitivní kontrola). Bez ohledu na to, zda se ve vzorku nachází Shiga toxiny, se vždy musí v kontrolní zóně objevit zřetelná červená linka, která potvrzuje správné fungování testu.

DODÁVANÉ REAGENCIE/MATERIÁLY
Maximální počet testů, které lze provést pomocí této testovací soupravy, je uveden na vnější krabičce.
1. Testovací prostředky Immuno*Card* STAT! EHEC obsahující imobilizované monoklonální protilátky proti ST1 a ST2. Tyto prostředky jsou baleny v jednotlivých fóliových sáčcích s vysoušedly. Pokud tento roztok nepoužíváte, skladujte jej při teplotě 2–8 C.
2. Ředicí roztok vzorku / negativní kontrola, pufrovaný ředicí roztok obsahující 0,094 % azidu sodného jako konzervační látky. Reagencie je dodávána v plastové lahvičce s kapátkem. K použití v dodávaném stavu. Pokud tento roztok nepoužíváte, skladujte jej při teplotě 2–8 C.
3. Pozitivní kontrola, roztok toxinů ST1 a ST2 ošetřený formalinem v pufrovaném ředicím roztoku obsahujícím 0,094 % azidu sodného jako konzervační látky. Reagencie je dodávána v plastové lahvičce s kapátkem. K použití v dodávaném stavu. Pokud tento roztok nepoužíváte, skladujte jej při teplotě 2–8 C.
4. 50 µL/175 µL jednorázové plastové přenosové pipety.

NEDODÁVANÉ MATERIÁLY
Všechny metody:
1. Inkubátory, 35–39 C
2. Vortexová třepačka
3. Intervalový časovač
4. Autokláv
5. Jednorázové latexové rukavice

Metoda s agarem SMAC:
1. Agarová plotna sorbitol–MacConkey bez teluritu nebo cefiximu
2. Roztok polymyxinu B
3. Malá testovací zkumavka (například 10 x 75 mm nebo 12 x 75 mm)
4. Dřevěné aplikační tyčinky
5. Destilovaná nebo deionizovaná voda
6. Jednorázové plastové přenosové pipety nebo mikropipety a jednorázové špičky schopné odměřit 200 µL
7. Jednorázové inokulační kličky

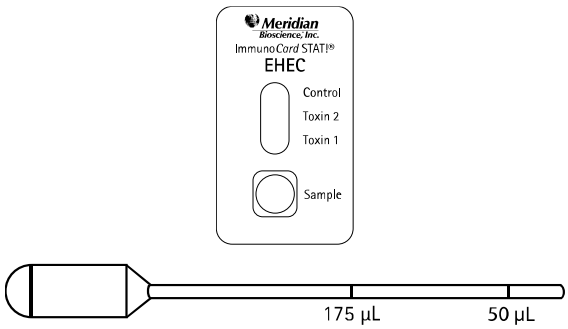
Metoda s bujonem:
1. Gram-negativní (GN) nebo MacConkey bujon (bujon s neutrálním červeným indikátorem může zasahovat do odečitatelnosti testu)
2. Modifikované médium Cary-Blair (nepovinné)

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ
1. Veškeré reagencie jsou určeny pouze k diagnostickému použití in vitro.
2. Reagencie pozitivní kontroly obsahuje Shiga toxiny ST1 a ST2 ošetřené formalinem (inaktivované). Přesto je s ní zapotřebí zacházet jako s potenciálně nebezpečným biologickým materiálem.
3. Některé reagencie obsahují jako konzervační látku azid sodný, který dráždí kůži. Vyvarujte se kontaktu s reagenciemi. Likvidace reagencií obsahujících azid sodný do kanalizace z olověného nebo měděného potrubí může vést ke vzniku výbušných oxidů kovů. Během likvidace předejdete vzniku nánosů oxidů propláchnutím odtoku velkým množstvím vody.
4. Soupravu nebo komponenty s překročeným uvedeným datem expirace nepoužívejte.
5. Testovací prostředky jsou zabalené ve fóliových sáčcích, které během přepravy brání vzniku vlhkosti. Před otevřením každý fóliový sáček zkontrolujte. Testovací prostředky, které byly umístěny v proděravělém nebo nedokonale utěsněném fóliovém sáčku, nepoužívejte. Při nesprávném skladování komponent a reagencií testu mohou vzniknout falešně negativní výsledky.
6. Nepoužívejte ředicí roztok vzorku / negativní kontrolu ani pozitivní kontrolu, které mají změněnou barvu nebo kalný vzhled. Změna barvy nebo kalný vzhled mohou být známkou mikrobiologické kontaminace.
7. Je zapotřebí si pečlivě přečíst pokyny a dodržovat je.
8. Nejedná se o přímý test ze stolice. Vzorky stolice musí být před testováním kultivovány na agarových plotnách SMAC nebo v bujonu GN či MacConkey. Pokud nebudou vzorky před testováním takto obohacené, výsledky budou chybné.
9. Nízké hladiny toxinů ve vzorcích v bujonu, které jsou před testováním skladovány zmrazené, mohou mít sníženou kvalitu a nemusí být detekovatelné. Nejlepších výsledků se dosáhne testováním čerstvých vzorků v bujonu. Je třeba se vyvarovat opakovaného rozmrazování a zmrazování.
10. Vzorky stolice likvidujte jako potenciálně nebezpečný biologický materiál. Před likvidací inaktivujte kultury autoklávováním po dobu alespoň 15 minut při teplotě 121 C.
11. Pipety dodávané v soupravě by měly nést značky v rozestupech znázorněných na schématu pipety v části POZNÁMKY K POSTUPU. Pokud se mají používat pipety dodávané v soupravě, nepoužívejte přenosové pipety, jejichž značky se liší od těch uvedených na schématu.

R-věty a S-věty
Nejsou známa žádná nebezpečí spojená s tímto produktem.

DOBA POUŽITELNOSTI A SKLADOVÁNÍ
Test Immuno*Card* STAT! EHEC je stabilní až do data expirace vytištěného na krabičce, pokud je skladován při teplotě 2 až 8 C. Testovací prostředek je nutné použít do 15 minut od jeho vyjmutí z uzavřeného fóliového sáčku.

POZNÁMKY K POSTUPU
Schémata testovacího prostředku Immuno*Card* STAT! EHEC a 50 µL/175 µL přenosové pipety dodávané v soupravě jsou uvedena níže.



POSTUP – BUJONOVÁ METODA
ODBĚR VZORKU – BUJONOVÁ METODA
1. Skladování a manipulace se vzorky stolice určenými ke kultivaci mikroorganismů EHEC: Vhodný vzorek stolice musí být ihned po odběru buď zmrazen (≤ −70 C), nebo uchováván při teplotě 2–8 C. Chlazené vzorky je třeba rozkultivovat do 2 hodin. Pokud kultivaci nelze provést do 2 hodin, je třeba umístit vzorek do modifikovaného transportního média na bázi Cary-Blair. Vzorky v modifikovaném transportním médiu na bázi Cary-Blair lze skladovat při teplotě 2–8 C, pokud budou rozkultivovány do dvou až tří dnů. Pokud do této doby nebude možné provést kultivaci, vzorky je třeba ihned po převzetí zmrazit na teplotu ≤ −70 C. Vzorky v modifikovaném transportním médiu na bázi Cary-Blair nelze nejdřív zchladit a poté zmrazit.
2. Skladování bujonu vykazujícího růst před testováním pomocí testu Immuno*Card* STAT! EHEC: Bujony s růstem lze před testováním pomocí testu Immuno*Card* STAT! EHEC uchovávat po dobu až sedmi dní při teplotě 2–8 C. Pokud se test v tomto časovém období neprovede, je třeba bujon zmrazit na teplotu ≤ −20 C po dobu až 21 dní. (Viz část BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ.)
3. Poznámka: Pro tuto metodu nebyly validovány vzorky stolice v transportním médiu (s výjimkou Cary-Blair), použití stěrových tamponů ani konzervačních látek.

PŘÍPRAVA/OBOHACENÍ VZORKU – BUJONOVÁ METODA
1. Bez ohledu na konzistenci důkladně promíchejte vzorek stolice pomocí aplikační tyčinky.
2. Pomocí pipetoru nebo přenosové pipety (dodávaná v soupravě):
   a. Nekonzervovaný vzorek: Přidejte 50 µL nekonzervovaného vzorku (první značka od špičky pipety) do kultivační zkumavky obsahující 8 mL GN bujonu nebo 5 mL bujonu MacConkey.
   b. Vzorky odebrané do modifikovaného média Cary-Blair: Přidejte 175 µL konzervovaného vzorku (druhá značka od špičky pipety) do kultivační zkumavky obsahující 8 mL GN bujonu nebo 5 mL bujonu MacConkey.
   c. Nepipetovatelný vzorek stolice: Pomocí dřevěné aplikační tyčinky přeneste kuličku stolice velkou 3–4 mm buď do 8 mL GN bujonu, nebo do 5 mL bujonu MacConkey.
3. Inkubujte inokulovaný bujon s volně nasazenými uzávěry při teplotě 35–39 C po dobu 16–24 hodin. (Vizuálně sledujte růst ve zkumavkách s bujonem.)
4. NEPOKRAČUJTE V TESTU, jestliže zkumavky s bujonem nevykazují po inkubaci žádný růst, neboť hrozí výskyt falešně negativních výsledků. Zopakujte postup obohacení bujonu stejným vzorkem stolice nebo novým vzorkem odebraným pacientovi. Pokud při původním obohacení byl použit GN bujon, lze i při druhém pokusu použít GN bujon, či případně lze použít Mac bujon, což platí i obráceně. Vzorek lze rovněž opakovaně rozkultivovat pomocí metody s plotnou SMAC. Pokud budete používat kultivaci na agaru, postupujte podle pokynů v části METODA S PLOTNOU SMAC níže. V následujících krocích používejte pouze ty bujonové kultury, které vykazují růst.
5. Z lahvičky s kapátkem přidejte pět kapek (150 µL) ředicího pufru vzorku do malé testovací zkumavky.
6. Důkladně bujonovou kulturu promíchejte opatrným kroužením zkumavkou.
7. Pomocí přenosové pipety dodávané v soupravě přidejte 175 µL vzorku (druhá značka od špičky pipety) do zkumavky obsahující ředicí roztoku vzorku / negativní kontrolu.
8. Opatrně přenosovou pipetou promíchejte obsah zkumavky tak, že balonek pipety zmáčknete 3krát za sebou. Případně můžete zkumavku vortexovat po dobu 10 sekund. Vraťte přenosovou pipetu do zkumavky pro další použití.
9. Naředěná bujonová kultura stolice může být před testováním uchovávána po dobu až 30 minut při teplotě 20–25 C.

POSTUP – BUJONOVÁ METODA
POSTUP TESTU
1. Před testováním nechejte všechny testovací prostředky, reagencie a vzorky dosáhnout pokojové teploty (20–25 C).
2. Jeden testovací prostředek Immuno*Card* STAT! EHEC vystačí pro jeden vzorek pacienta.
3. Vyjměte testovací prostředek Immuno*Card* STAT! EHEC z fóliového sáčku. Prostředek označte identifikátorem pacienta.
4. Pomocí přenosové pipety dodávané v soupravě pomalu přidejte 175 µL naředěného vzorku (druhá značka od špičky pipety) do otvoru pro vzorek v prostředku.
5. Inkubujte test při teplotě 20–25 C po dobu 20 minut.
6. Odečtěte výsledky do 1 minuty od skončení inkubace.

POSTUP – METODA S AGAROVOU PLOTNOU SMAC
ODBĚR VZORKU – METODA S PLOTNOU SMAC
Odeberte vzorky stolice bez konzervační látky. Vzorky mohou být uchovávány při kontrolované pokojové teplotě po dobu až 4 hodin před přípravou kultury. Vzorky stolice, které nelze rozkultivovat do 4 hodin, je třeba umístit do teploty 2–8 C a kultivovat do 24 hodin. Jestliže vzorky nelze rozkultivovat do 24 hodin, je nutné je zmrazit na teplotu ≤ −70 C co nejdříve po jejich převzetí.

PŘÍPRAVA/OBOHACENÍ VZORKU – METODA S PLOTNOU SMAC
1. Bez ohledu na konzistenci důkladně promíchejte vzorek stolice pomocí aplikační tyčinky.
2. Pomocí tamponu Dacron inokulujte vzorky stolice na agarové plotny SMAC bez teluritu nebo cefiximu. (POZNÁMKA: Telurit a cefixim inhibují růst non-O157:H7 *E. coli*.)
3. Inokulovanou plotnu inkubujte po dobu 18–24 hodin při teplotě 35–39 C.
4. NEPOKRAČUJTE V TESTU, jestliže agarová plotna nevykazuje po inkubaci žádný růst, neboť hrozí výskyt falešně negativních výsledků. Zopakujte postup obohacení agaru stejným vzorkem stolice nebo novým vzorkem odebraným pacientovi. Případně můžete opakovat kultivaci vzorku pomocí metody obohaceného bujonu uvedené výše. V následujících krocích používejte pouze ty agarové kultury, které vykazují růst.
5. Připravte roztok 50 µg/mL polymyxinu B v destilované vodě.
6. Aplikujte 0,5 mL 50 µg/mL roztoku polymyxinu B do testovací zkumavky.
7. Pomocí tamponu Dacron setřete několikrát oblasti se souvislým růstem na plotně; vyhněte se při tom mukoidním koloniím. Mukoidní kolonie mohou interferovat s migrací vzorku.
8. Ponořte tampon obsahující stěr kolonií do roztoku destilované vody / polymyxinu a alespoň 3krát tamponem otočte, abyste podpořili uvolnění Shiga toxinů z mikroorganismů.
9. Inkubujte směs po dobu 30 minut při teplotě 35 C.

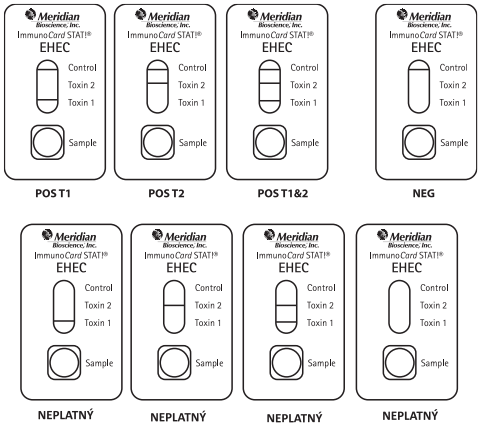
POSTUP TESTU – METODA S PLOTNOU SMAC

1. Před testováním nechejte všechny testovací prostředky, reagencie a vzorky dosáhnout pokojové teploty (20–25 C).
2. Jeden testovací prostředek Immuno*Card* STAT! EHEC vystačí na jeden vzorek pacienta a kontrolu.
3. Vyjměte testovací prostředek Immuno*Card* STAT! EHEC z fóliového sáčku a sáček zlikvidujte.
4. Umístěte testovací prostředek na rovný povrch a označte jej jménem pacienta nebo názvem kontroly, které se mají testovat.
5. Promíchejte inokulovaný vzorek vody/polymyxinu připravený v kroku 6 výše (PŘÍPRAVA VZORKU) opatrným kroužením zkumavkou.
6. Pomocí pipetoru nebo přenosové pipety (**NENÍ** dodávána v soupravě) přidejte 200 µL do kruhového otvoru pro vzorek na testovacím prostředku.
7. Inkubujte test při teplotě 20–25 C po dobu 10 minut.
8. Odečtěte výsledky do 1 minuty od skončení inkubace.

TESTY EXTERNÍCH KONTROL – METODA S AGAREM SMAC NEBO BUJONOVÁ METODA

1. Před testováním nechejte všechny testovací prostředky a reagencie dosáhnout teploty (20–25 C).
2. Jeden testovací prostředek Immuno*Card* STAT! EHEC vystačí na jednu pozitivní kontrolu a ředicí roztok vzorku / negativní kontrolu.
3. Vyjměte testovací prostředek Immuno*Card* STAT! EHEC z fóliového sáčku. Prostředek označte názvem kontrolní látky, která má být testována.
4. Přidejte přesně 5 kapek reagencie pozitivní kontroly do otvoru pro vzorek v prostředku určeného pro pozitivní kontrolu.
5. Přidejte přesně 6 kapek ředicího roztoku vzorku / negativní kontroly do otvoru pro vzorek v prostředku určeného pro negativní kontrolu.
6. Inkubujte test při teplotě 20–25 C po dobu 20 minut.
7. Odečtěte výsledky do 1 minuty od skončení inkubace.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ



Negativní test: RŮŽOVOČERVENÝ proužek na pozici kontrolní linky. Nejsou přítomny žádné další proužky.

Pozitivní test na Shiga toxin 1: RŮŽOVOČERVENÉ proužky na pozicích kontrolní linky a linky Toxin 1. Žádné proužky v testovací lince Toxin 2. Přítomnost i velmi slabé testovací linky Toxin 1 indikuje přítomnost Shiga toxinu 1. Intenzita testovací linky může být slabší než u kontrolní linky.

Pozitivní test na Shiga toxin 2: RŮŽOVOČERVENÉ proužky na pozicích kontrolní linky a linky Toxin 2. Žádné proužky v testovací lince Toxin 1. Přítomnost i velmi slabé testovací linky Toxin 2 indikuje přítomnost Shiga toxinu 2. Intenzita testovací linky může být slabší než u kontrolní linky.

Pozitivní test na Shiga toxiny 1 a 2: RŮŽOVOČERVENÉ proužky na pozicích kontrolní linky a linky Toxin 1 a Toxin 2. Přítomnost i velmi slabé testovací linky Toxin 1 a Toxin 2 indikuje přítomnost Shiga toxinů 1 a 2. Intenzita testovacích linek může být slabší než u kontrolní linky.

Neplatné výsledky testu:

1. Na vyhrazené pozici kontrolní linky se nenachází žádný proužek. Test je neplatný, jelikož nepřítomnost kontrolního proužku indikuje nesprávné provedení testu nebo snížení kvality reagencií.
2. Výskyt RŮŽOVOČERVENÉHO proužku na pozici testovací linky Toxin 1 nebo Toxin 2 poté, co uplynula definovaná inkubační doba, nebo proužek jakékoli barvy jiné než RŮŽOVOČERVENÉ. Při příliš dlouhé inkubaci mohou vzniknout falešně pozitivní výsledky. Jiná barva proužků než RŮŽOVOČERVENÁ může poukazovat na snížení kvality reagencií.

Je-li jakýkoli výsledek obtížně interpretovatelný, je třeba test zopakovat za použití stejného vzorku, aby se vyloučila možnost chyby. Je-li výsledek původního vzorku opakovaně nečitelný, získejte nový vzorek a zopakujte test.

KONTROLA KVALITY

Tento test musí být prováděn podle platných místních, státních nebo federálních předpisů nebo podle požadavků akreditačních orgánů.

Při každém použití je nutné komponenty soupravy prohlédnout a ověřit, že nejeví zjevné známky mikrobiální kontaminace, námrazy nebo netěsnosti. Nepoužívejte reagencie, které byly kontaminovány nebo existuje takové podezření.

Interní kontroly: Interní kontroly jsou obsaženy uvnitř testovacího proužku, a proto se jejich vyhodnocení provádí společně s každým testem.

1. RŮŽOVOČERVENÝ proužek, který se objevuje v místě kontrolní linky, slouží jako kontrola postupu a udává, že test byl proveden správně, že došlo k řádnému průtoku a že reagencie testu byly v době použití aktivní.
2. Bílé pozadí okolo kontrolní nebo testovací linky také slouží jako kontrola průběhu testu. Kontrolní či testovací linky, jejichž viditelnost je zhoršena silně zbarveným pozadím, mohou test zneplatnit, jelikož mohou indikovat sníženou kvalitu reagencií, použití nevhodného vzorku nebo nedostatečnou výkonnost testu.

Externí kontroly: Reagencie externí kontroly se musí testovat v souladu s požadavky laboratoře či s platnými požadavky místních, státních nebo akreditačních orgánů.

Výsledky, které jsou při použití kontrol očekávané, jsou popsány v části INTERPRETACE VÝSLEDKŮ.

Externí pozitivní a negativní kontroly je nutné analyzovat s každou soupravou s novým číslem šarže nebo novou dodávkou. Počet dodatečných testů prováděných za použití externích kontrol bude určen podle požadavků místních, státních nebo federálních předpisů či akreditačních orgánů. Externí kontroly slouží k monitorování reaktivity reagencií a výkonnosti testu. Selhání kontrol při reprodukci očekávaných výsledků může značit, že některá z reagencií nebo komponent již v době použití není reaktivní, že test nebyl proveden správně nebo že nedošlo k přidání reagencií či vzorku. **Pokud nejsou pozorovány očekávané kontrolní reakce, proveďte první krok k zjištění hlavní příčiny selhání, kterým je zopakování kontrolních testů. V případě opakovaně neúspěšných kontrolních testů se obraťte na oddělení technických služeb společnosti Meridian na telefonním čísle 1 800 343 3858 (USA) nebo na místního distributora.** Soupravu nepoužívejte, pokud kontrolní testy neposkytnou správné výsledky.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Pozitivní výskyt pro každou laboratoř bude záviset na několika faktorech, jako je způsob odběru vzorku, manipulace se vzorkem a jeho transport, roční období nebo výskyt infekce EHEC v době testování. V případě nepřítomnosti infekce EHEC lze očekávat negativní výsledek testu.

OMEZENÍ POSTUPU

1. Tento test je kvalitativního rázu, a proto by se při sestavování zprávy obsahující výsledek neměla provádět kvantitativní interpretace podle intenzity pozitivní linky.
2. Výsledky tohoto testu je třeba používat ve spojení s informacemi, které byly u daného pacienta získány prostřednictvím klinického hodnocení a dalších diagnostických postupů.
3. V případě, že není přidáno 175 µL bujonové kultury k 5 kapkám ředicího roztoku vzorku / negativní kontroly (krok 7 v části PŘÍPRAVA/OBOHACENÍ VZORKU – BUJONOVÁ METODA), mohou vzniknout falešně negativní výsledky. Může být užitečné vizuálně zkontrolovat, že byla bujonová kultura přidána. Popisovačem označte na boku testovací zkumavky linku hladiny ředicího roztoku vzorku / negativní kontroly. Po přidání bujonové kultury by se tato linka měla nacházet uprostřed celkového objemu naředěného vzorku. Přidání více než 5 kapek ředicího roztoku vzorku / negativní kontroly může také vést k falešně negativním výsledkům testu.
4. Nadměrná doba inkubace testů může mít za následek získání falešně pozitivních výsledků. Provádění inkubace testů při nižší teplotě nebo po kratší dobu může mít za následek získání falešně negativních výsledků.
5. Výkonnost testu Immuno*Card* STAT! EHEC NEBYLA HODNOCENA pro přímé vzorky stolice. Byla hodnocena pouze pro kultury na plotnách SMAC nebo tekuté kultury GN či MacConkey.
6. **POZNÁMKA: Shiga toxin 1 produkovaný *E. coli* a toxin produkovaný kmeny *Shigella dysenteriae* typu 1 jsou téměř identické. Proto test Immuno*Card* STAT! EHEC může poskytovat pozitivní výsledek i u toxinů z kmenů *S. dysenteriae* typu 1. Tyto dva mikroorganismy lze odlišit pomocí ploten se selektivními růstovými médii a biochemickou analýzou.**

SPECIFICKÉ VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

METODA S PLOTNOU SMAC

Testovací prostředky byly hodnoceny v USA pomocí metody SMAC a 249 vzorků čerstvé stolice a 41 zmrazených vzorků stolice pozitivních na Shiga toxin.

	SROVNÁVACÍ METODA (Premier EHEC)		
Metoda s agarem SMAC	Pozitivní	Negativní	Celkový počet
Pozitivní	46	1*	47
Negativní	0	243	243
Celkový počet	46	244	290
			CI
Pozitivní shoda	46/46	100%	92.3% - 100%
Negativní shoda	243/244	99.6%	97.7% - 100%
Celková shoda	289/290	99.7%	98.7% - 100%

*Kmen *E. coli* O157:H7 byl získán z kultury, ale nebyl detekován referenční metodou.

BUJONOVÁ METODA

Tato studie se prováděla na testovaných čerstvých vzorcích nebo vzorcích skladovaných v mrazničce. Vzorky byly získány od pacientů v USA, Kanadě a Argentině. Pět laboratoří v USA vyhodnocovalo 469 vzorků pomocí bujonu Mac a GN. (120 z těchto vzorků byly vzorky pevné stolice získané od pacientů, u nichž se předpokládala gastroenteritida.) 448/469 vzorků vykázalo růst v GN bujonu, zatímco 449 vykázalo růst v bujonu Mac. Tři ze vzorků v GN bujonu byly vyřazeny z hodnocení komparativním prostředkem z důvodu nedostatečného objemu. Sedm z 469 vzorků rostlo pouze v bujonu Mac, zatímco tři jiné vzorky rostly pouze v GN bujonu. Čtrnáct vzorků nerostlo v žádném bujonu. Vzorky stolice byly odebrány od mužských i ženských pacientů různého věku. Vzorky s rozporem mezi výsledky v testu Premier EHEC a v testu ICS EHEC byly dále analyzovány cytotoxinovým testem. Tyto vzorky obecně vykazovaly slabou reaktivitu (< 0,300) v testu Premier EHEC.

SROVNÁVACÍ METODA (Premier EHEC)			
Metoda s bujonem Mac			
ICS EHEC			
	Pozitivní	Negativní	Celkový počet
Pozitivní	60	1	61
Negativní	4*	384	388
Celkový počet	64	385	449
			CI
Pozitivní shoda	60/64	93.8%	84.8% - 98.3%
Negativní shoda	384/385	99.7%	98.6% - 100%
Celková shoda	444/449	98.9%	97.4% - 99.6%

*Dva vzorky ICS EHEC − / Premier EHEC + byly podle referenční cytotoxinové metody negativní.

SROVNÁVACÍ METODA (Premier EHEC)			
GN Broth Method			
ICS EHEC			
	Pozitivní	Negativní	Celkový počet
Pozitivní	57	1	58
Negativní	7*	380	387
Celkový počet	64	381	445
			CI
Pozitivní shoda	57/64	89.1%	78.8% - 95.5%
Negativní shoda	380/381	99.7%	98.5% - 100%
Celková shoda	437/445	98.2%	96.5% - 99.2%

*Čtyři vzorky ICS EHEC − / Premier EHEC + byly podle referenční cytotoxinové metody negativní.

Výsledky každé bujonové metody jsou vzájemně porovnány v následující tabulce.

	Mac pozitivní	Mac negativní	Mac bez růstu	Celkový počet
GN pozitivní	54	3	1	58
GN negativní	3	382	5	390
GN bez růstu	4	3	14	21
Celkový počet	61	388	20	469

ANALYTICKÁ CITLIVOST

TEST S AGAREM SMAC

Metoda s agarem SMAC je schopná detekovat toxin v jedné jednotce tvořící kolonie nebo při 25 ng/mL nepurifikovaných Shiga toxinů 1 a 62,5 ng/mL nepurifikovaných Shiga toxinů 2.

TEST S GN BUJONEM nebo BUJONEM MAC

Spodní limit detekce je na hladině 1,25 ng/mL pro ST1 i ST2 při použití purifikovaného toxinu.

REPRODUKOVATELNOST

TEST S AGAREM SM

Tři nezávislé laboratoře testovaly tři vzorky v triplikátu, ve třech různých časech v jednom dni (variabilita v rámci analýzy) a ve třech různých dnech (variabilita mezi analýzami). Vzorky sestávaly ze tří negativních, tří slabě pozitivních a tří silně pozitivních vzorků. Test Immuno*Card* STAT! EHEC vykázal 100% reprodukovatelnost včetně kontrolních linek.

TEST S GN BUJONEM nebo BUJONEM MAC

Tři nezávislé laboratoře testovaly 12 vzorků (n = 2 silně pozitivní, n = 4 slabě pozitivní, n = 4 slabě negativní, n = 2 silně negativní) v duplikátu v jeden den (variabilita v rámci analýzy) a ve tři různé dny (variabilita mezi analýzami). Test Immuno*Card* STAT! EHEC vykázal 100% reprodukovatelnost včetně kontrolních linek.

REAKTIVITA ANALÝZY

TEST S AGAREM SMAC: Následujících 40 STEC kmenových kultur bylo kultivováno na plotnách SMAC a poté následovala extrakce polymyxinem. Všechny izoláty vykázaly pozitivní reakci v testu Immuno*Card* STAT! EHEC. O157:H7 (32 kmenů), O96:H9 (1), O111:NM (1), O26:H11 (2), O103:H2 (1), O145:NM (1), O45:H2 (1), O45:NM (1).

TEST S GN BUJONEM nebo BUJONEM MAC: Následujících 39 STEC kmenových kultur bylo kultivováno v GN bujonu nebo bujonu MacConkey. Všechny izoláty vykázaly pozitivní reakci v testu Immuno*Card* STAT! EHEC. O157:H7 (32 kmenů), O157:NM (1), O111:NM (2), O111:H21 (1), O121:H19 (1), O126:H27 (1), O45:H2 (1).

ZKŘÍŽENÁ REAKTIVITA
TEST S AGAREM SMAC: Žádný z následujících mikroorganismů nereagoval s testem Immuno*Card* STAT! EHEC. (Mikroorganismy a počet testovaných kmenů): *Pseudomonas aeruginosa* (10), *Klebsiella pneumoniae* (10), *druh Enterobacter* (10), *druh Proteus* (10), ST-neprodukující *E. coli* (10), druh Aeromonas (3), *Serratia marcescens* (5), druh Shigella (3).
TEST S GN BUJONEM NEBO BUJONEM MAC: Žádný z následujících mikroorganismů nereagoval zkříženě s testem Immuno*Card* STAT! EHEC: *Aeromonas hydrophila Campylobacter coli, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Citrobacter freundii, Clostridium difficile, Clostridium perfringens, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* (2 netoxigenní kmeny), *Escherichia coli* O157:H7 (netoxigenní kmen), *Escherichia hermannii, Escherichia fergusonii, Helicobacter pylori, Klebsiella pneumoniae, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Salmonella* skupina B, *Salmonella hiversum, Salmonella minnesota, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens* (2 kmeny), *Shigella boydii, Shigella flexeri, Shigella sonnei, Staphyloccocus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowan), *Staphylococcus epidermidis, Yersinia enterocolitica* (2 kmeny), Adenovirus Typu 14, Adenovirus Typu 2, Adenovirus Typu 41, kočičí kalicivirus, Coxsackie A9, Coxsackie B1, Enterovirus typu 69, Herpes Simplex Virus II, Parainfluenza typu 3, Rotavirus.

TESTY NA INTERFERUJÍCÍ LÁTKY (POUZE BUJONOVÉ TESTY)
Následující látky byly vneseny přímo do vzorků stolice a neinterferují s testem při uvedených koncentracích: síran barnatý (0,05 mg/mL), Prilosec OTC (5 ug/mL), Pepto-Bismol (1 : 2100), Tums (0,05 mg/mL), Tagamet (5 ug/mL), Mylanta (1 : 2100), leukocyty (0,05 % v/v), mucin (0,03 mg/mL), kyselina stearová/palmitová (0,04 mg/mL), plná krev (0,05 % v/v).

LITERATURA

1. Karmali MB. Laboratory diagnosis of verotoxin-producing *Escherichia coli* infections. Clin Microbiol Newsletter. 1987; 9:65-70.
2. Maniar AC, Williams T, Anand CM, Hammond, GW. Detection of verotoxin in stool specimens. J Clin Microbiol. 1990; 28:134-135.
3. O'Brien AD, Holmes RK. Shiga and shiga-like toxins. Microbiol Reviews. 1987; 51:206-219.
4. Griffin PM, Ostroff S, Tauxe R, 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.
5. Pai CH, Ahmed N, Lior H, Johnson WM, Sims HV, Woods DE. Epidemiology of sporadic diarrhea due to verocytotoxin-producing *Escherichia coli*: A two year prospective study. J Infec Dis. 1988; 157:1054-1057.
6. Maniar AC, Williams T, Anand CM, Hammond GW. Detection of verotoxin in stool specimens. J Clin Microbiol. 1990; 28:134-135.
7. Neill MA. *Escherichia coli* O157:H7. A pathogen of no small renown. Infec Dis Newsletter. 1991; 10:19-24.
8. Karch H, Bohm H, Schmidt H, Gunzer F, Aleksic S, Hessesmann J. Clonal structure and pathogenicity of Shiga-like toxin producing, sorbitol-fermenting *Escherichia coli* O157:H. J Clin Microbiol. 1993; 31:1200-1205.
9. Mariani-Kurkdijan P, Deamur E, Milan A, Picard B, et. al. Identification of a clone of *Escherichia coli* O103:H2 as a potential agent of hemolytic-uremic syndrome in France. J Clin Microbiol. 1993; 31:296-301.
10. Kay BA, Griffin PM, Stockbine VA, Wells JG. Too fast food: Bloody diarrhea and death from *Escherichia coli* O157:H7. Clin Microbiol Newsletter. 1994; 16:17-19.
11. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Infectious Diseases, *E. coli* O157:H7, What the clinical microbiologist should know. 1994.

SN11169 **REV. 10/18**

Manufactured By

Meridian Bioscience, Inc.
Corporate Office
3471 River Hills Drive
Cincinnati, Ohio 45244 USA
Telephone: 513.271.3700
Orders/Customer Service: 800.543.1980
Technical Support Center: 800.343.3858
Information Fax: 513.272.5432
Ordering Fax: 513.271.0124

POUŽITÍ SYMBOLŮ
Na etiketě/obalu tohoto výrobku může být uveden jeden nebo více těchto symbolů.
Legenda k symbolům.

	Použitelné do	CONTROL +	Pozitivní kontrola
LOT	Kód šarže	CONTROL −	Kód šarže
IVD	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro	EC REP	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství
CE	Tento výrobek splňuje požadavky směrnice 98/79/ES o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro	SMP PREP DIL SPE	Přístroj na přípravu vzorků obsahující ředicí roztok vzorku
REF	Katalogové číslo		Nezmrazujte
	Přečtěte si návod k použití	BUF RXN	Reakční pufr
	Výrobce		Pouze k hodnocení výkonu IVD
Σ	Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů	SOLN STOP	Zastavovací roztok
	Omezení teploty	CONJ ENZ	Enzymový konjugát
SN	Sériové číslo	CONTROL	Kontrola testu
TEST	Testovací prostředek	REAG	Reagencie
	Datum výroby	BUF WASH	Promývací pufr
BUF	Pufr		Varování
CONJ	Konjugát	DIL SPE	Ředicí roztok vzorku
SUBS	Substrát	BUF WASH 20X	Koncentrace promývacího pufru: 20X
Rx Only	Pouze na lékařský předpis	DET REAG	Detekční reagencie
	Nepoužívejte, je-li obal poškozen	TUBE	Prázdná zkumavka

Pro technickou pomoc volejte služby technické podpory na čísle 800-343-3858 mezi 8:00 a 18:00, Východní standardní čas USA

APPROVED
CZ-2023-01-11