



CERTEST *E.coli* O157+VT1+VT2 kombinuotas testas

Vieno žingsnio CERTEST *E.coli* O157+VT1+VT2 kombinuotas kasetės testas

PASKIRTIS

CERTEST *E.coli* O157+VT1+VT2 kombinuotas kasetinis testas yra vieno žingsnio spalvotas chromatografinis imunotyrimas kokybiniam *Escherichia coli* O157:H7 ir jų išskiriamų Verotoksino 1 ir 2 (VT1 ir VT2) nustatymui išmatų mėginiuose ir įtariamose *E.coli* kultūrose iš išmatų.

CERTEST *E.coli* O157+VT1+VT2 kombinuotas kasetinis testas siūlo paprastą ir labai jautrų testą įtariant enterohemoraginę *E. coli* (EHEC) infekciją.

SAUGOJIMAS IR STABILUMAS

Saugoti pakuotėje prie 2-30 °C. Testas stabilus iki galiojimo datos, kuri nurodyta ant kiekvienos testo pakuotės. Testas turi likti pakuotėje iki naudojimo. Neužšaldykite.

ATSARGUMO PRIEMONĖS

- Testas skirtas naudoti profesionalams tik *in vitro* diagnostikai.
- Nenaudokite pasibaigus galiojimo laikui.
- Visi mėginiai laikomi potencialiai pavojingais ir dirbti su jais reikia kaip su infekcinėmis medžiagomis.
- Atlikus tyrimą testas išmetamas į biologiškai pavojingų medžiagų konteinerį.
- Reagentuose yra konservantų. Venkite sąlyčio su oda ar gleivine.
- Testo komponentai yra skirti tik *E.coli* O157+VT1+VT2 testui atlikti. Nenaudokite kitų komercinių komponentų šiam testui.
- Sekite geros laboratorinės praktikos, dėvėkite apsauginius drabužius, vienkartinės pirštines, akinius ir kaukes. Nevalgykite, negerkite ir nerūkykite darbo vietoje.

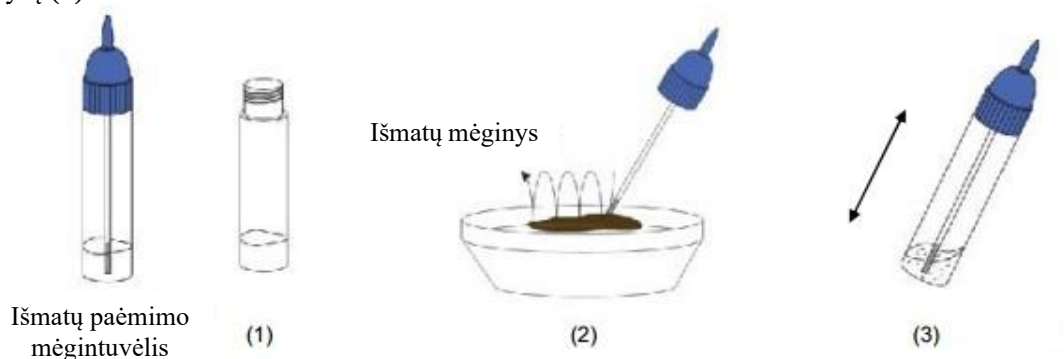
MĖGINIŲ PAĖMIMAS IR PARUOŠIMAS

Išmatų mėginiai

Išmatų mėginiai turi būti paimti į švarius konteinerius. Mėginiai gali būti laikomi šaldytuve (2-8 °C) 24 val. iki tyrimo. Ilgesniam laikymui, daugiausiai 2 savaitėms, mėginiai turi būti laikomi užšaldyti -20 °C temperatūroje. Šiuo atveju prieš testavimą mėginys turi būti visiškai atitirpintas ir atšilęs iki kambario temperatūros. Įsitinkinkite, kad atšildytas tik reikalingas kiekis, nes pakartotinas užšaldymas ir atitirpinimas nerekomenduojamas. Ruošiant išmatų mėginius juos reikia kiek galima geriau homogenizuoti.

Mėginio paruošimas (žr. paveikslėlius):

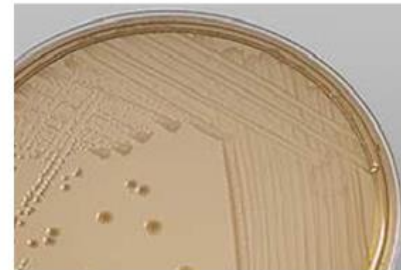
1. Atsukite mėgintuvėlio dangtelį (1) ir lazdele paimkite mažą mėginėlį (apie 125 mg) iš keturių skirtingų mėginio vietų (2). Jei išmatų mėginys yra skystas, naudodami pipetę paimkite apie 125 µl ir perkelkite į išmatų surinkimo mėgintuvėlį su skiedikliu.
2. Uždarykite mėgintuvėlį su skiedikliu ir išmatų mėginiu. Suplakite mėgintuvėlį taip, kad mėginys gerai išsisklaidytų (3).



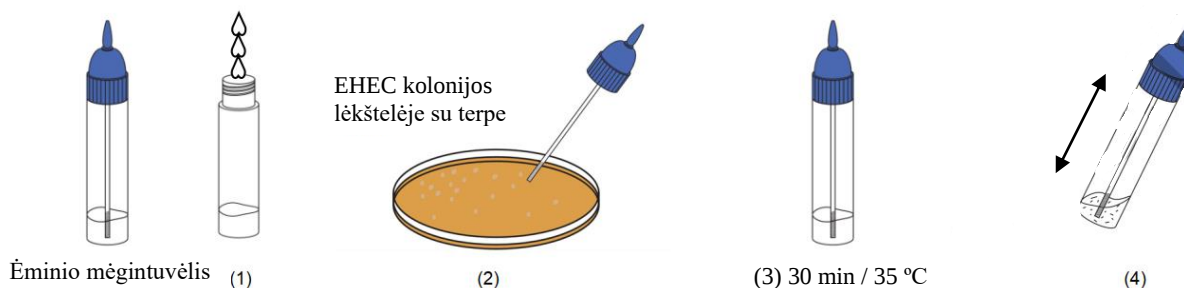
Įtariamose EHEC kolonijose išmatų kultūroje

Sorbitolio MacConkey agaras (SMACA) be telurito ar cefiksimo yra tinkamas metodas EHEC (aerobinės sąlygos, 24 val./37°C) izoliacijai. Po 24 valandų inkubacijos terpėje atsiranda EHEC kolonijos.

1. Atsukite mėgintuvėlio dangtelį ir į skiediklį pridėkite 50 125 µg Polomiksino B (1).
2. Tikrinkite Sorbitolio MacConkey agaro lėkštes praėjus 1 dienai inkubacijos. Atrinkite tipiškas EHEC kolonijas. Panaudokite mėgintuvėlio dangtelio pagaliuką arba inokuliacinę kilpelę paimti 3 ar 4 bandinius iš EHEC kolonijų (2) ir dėkite juos į mėgintuvėlį. Inkubuokite 30 min / 35 °C (3).
3. Uždarykite mėgintuvėlį su skiedikliu ir bakterijų ėminiu. Suplakite mėgintuvėlį taip, kad mėginys gerai išsisklaidytų (4).



E.coli O157:H7 kolonijos SMACA terpėje



TIEKIAMOS MEDŽIAGOS

- CERTEST E.coli O157+VT1+VT2 kombinuota testo kasetė
- Naudojimo instrukcijos
- Surinkimo mėgintuvėliai su mėginio skiedikliu

REIKALINGOS MEDŽIAGOS, KURIOS NEPATIEKIAMOS

- Mėginio paėmimo konteineris
- Vienkartinės pirštinės
- Laikmatis
- SMAC agaras
- Polimiksinas B

Pateikiama kartu su pasiūlymu

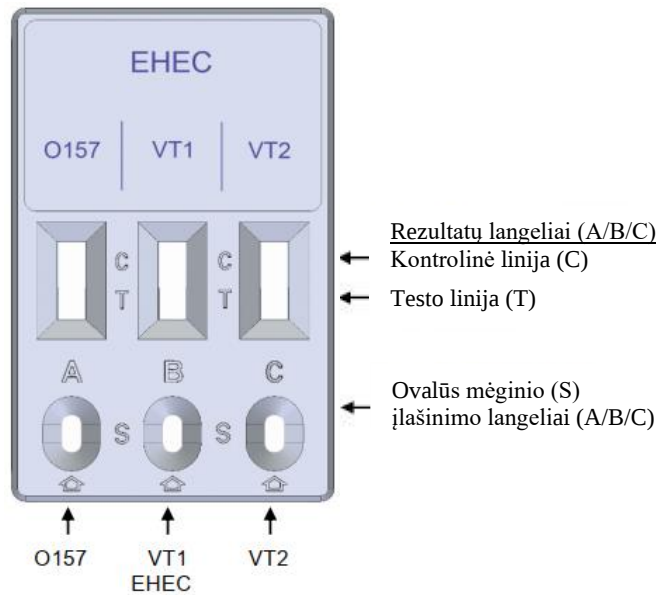
TESTO PROCEDŪRA

Prieš tyrimą leiskite testui, išmatų mėginiams ir kontrolėms pasiekti kambario temperatūrą (15-30 °C). Neatidarykite pakuotės, kol nepasiruošite tyrimui.

1. Dar kartą paplakite išmatų surinkimo mėgintuvėlį, kad mėginys gerai išsisklaidytų skiediklyje.
2. Išimkite CERTEST E.coli O157+VT1+VT2 kombinuoto testo kasetę iš pakuotės tik prieš pat naudojimą.
3. Paimkite bandinio surinkimo mėgintuvėlį, nukirpkite arba nulaužkite mėgintuvėlio viršūnę (4) ir įlašinkite 4 lašus mėginio tirpalo į ovalų langelį A (5), 4 lašus į ovalų langelį B (6) ir 4 lašus į langelį C (7). Venkite kietųjų dalelių patekimo į skystį.
4. **Rezultatą pamatysite po 10 minučių.** Nevertinkite testo rezultatų po daugiau nei 10 min.

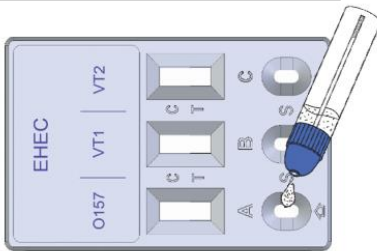
CERTEST E.coli O157+VT1+VT2 kombinuotas testas
Vieno žingsnio CERTEST E.coli O157+VT1+VT2 kombinuotas kasetės testas

Jei testas neveikia dėl kietųjų dalelių tirpale, pamaišykite mėginį esantį langelyje (S) su lazdele. Jei tai nepadeda, įlašinkite dar mėginio, kol pamatysite jog skystis pradeda judėti reakcijos zonos link.



O157 juostelės A procedūra

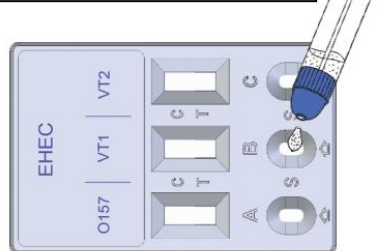
Įlašinkite 4 lašus į ovalų langelį (A)



(5)

VT1 juostelės B procedūra

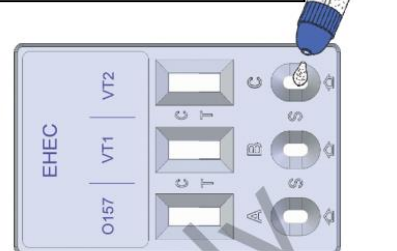
Įlašinkite 4 lašus į ovalų langelį (B)



(6)

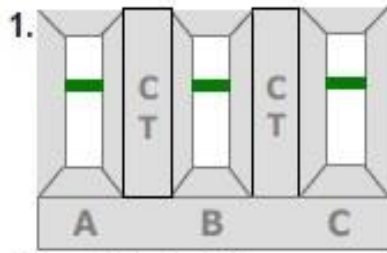
VT2 juostelės C procedūra

Įlašinkite 4 lašus į ovalų langelį (C)

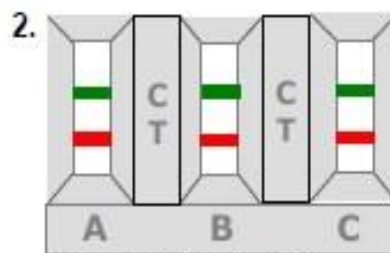


(7)

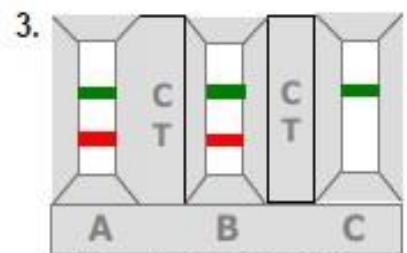
REZULTATŲ INTERPRETAVIMAS (prašome pažiūrėti į paveikslėlių apačioje)



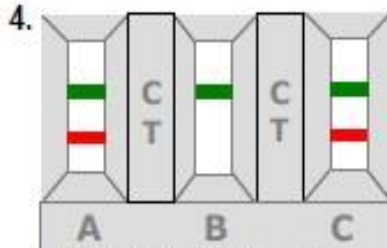
A: Žalia → Neigiamas *E.coli* O157:H7
 B: Žalia → Neigiamas VT1
 C: Žalia → Neigiamas VT2



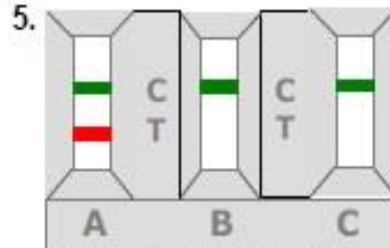
A: Žalia/Raudona → Teigiamas *E.coli* O157:H7
 B: Žalia/Raudona → Teigiamas VT1
 C: Žalia/Raudona → Teigiamas VT2



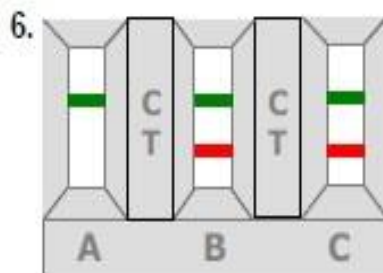
A: Žalia/Raudona → Teigiamas *E.coli* O157:H7
 B: Žalia/Raudona → Teigiamas VT1
 C: Žalia → Neigiamas VT2



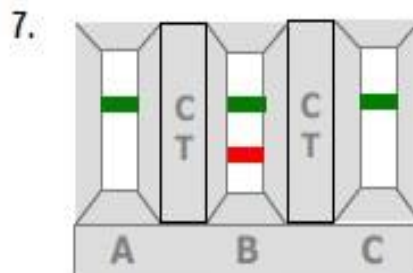
A: Žalia/Raudona → Teigiamas *E.coli* O157:H7
 B: Žalia → Neigiamas VT1
 C: Žalia/Raudona → Teigiamas VT2



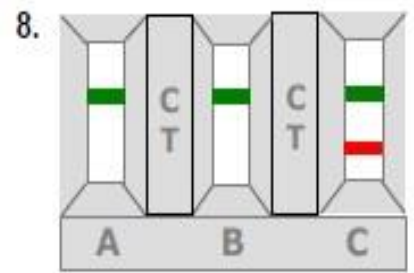
A: Žalia/Raudona → Teigiamas *E.coli* O157:H7
 B: Žalia → Neigiamas VT1
 C: Žalia → Neigiamas VT2



A: Žalia → Neigiamas *E.coli* O157:H7
 B: Žalia/Raudona → Teigiamas VT1
 C: Žalia/Raudona → Teigiamas VT2

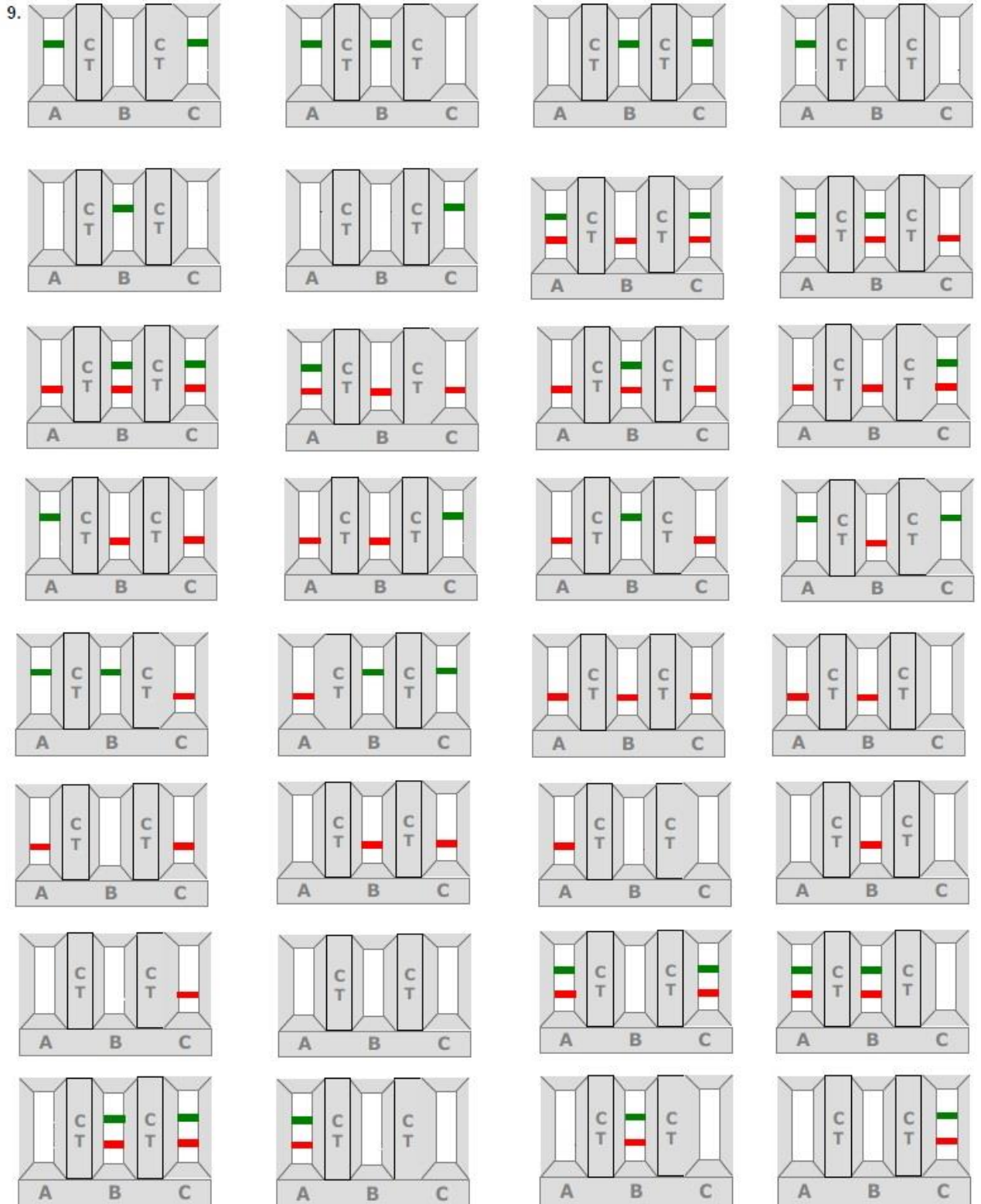


A: Žalia → Neigiamas *E.coli* O157:H7
 B: Žalia/Raudona → Teigiamas VT1
 C: Žalia → Neigiamas VT2



A: Žalia → Neigiamas *E.coli* O157:H7
 B: Žalia → Neigiamas VT1
 C: Žalia/Raudona → Teigiamas VT2

NEGALIOJANTYS REZULTATAI:



	A (E.coli O157)	B (VT1)	C (VT2)	Rezultatų interpretavimas
1.	- ŽALIA	- ŽALIA	- ŽALIA	Nėra <i>Escherichia coli</i> O157:H7, VT1 ar VT2. Infekcijos sukėlėjas ne EHEC.
2.	+ ŽALIA- RAUDONA	+ ŽALIA- RAUDONA	+ ŽALIA- RAUDONA	Yra <i>Escherichia coli</i> O157:H7, VT1 ir VT2. Infekcijos sukėlėjas EHEC.
3.	+ ŽALIA- RAUDONA	+ ŽALIA- RAUDONA	- ŽALIA	Yra <i>Escherichia coli</i> O157:H7 ir VT1. Infekcijos sukėlėjas EHEC.
4.	+ ŽALIA- RAUDONA	- ŽALIA	+ ŽALIA- RAUDONA	Yra <i>Escherichia coli</i> O157:H7 ir VT2. Infekcijos sukėlėjas EHEC.
5.	+ ŽALIA- RAUDONA	- ŽALIA	- ŽALIA	Yra <i>Escherichia coli</i> O157:H7. Infekcijos sukėlėjas EHEC.
6.	- ŽALIA	+ ŽALIA- RAUDONA	+ ŽALIA- RAUDONA	Yra VT1 ir VT2. Infekcijos sukėlėjas EHEC.
7.	- ŽALIA	+ ŽALIA- RAUDONA	- ŽALIA	Yra VT1. Infekcijos sukėlėjas EHEC.
8.	- ŽALIA	- ŽALIA	+ ŽALIA- RAUDONA	Yra VT2. Infekcijos sukėlėjas EHEC.
9.	Bet koks kitas rezultatas			Gavus negaliojantį rezultatą A, B arba C juostelėje, rekomenduojama bandymą pamėginti su tuo pačiu mėginiu naudojant naują testą.

NEGALIOJANTIS: Visiškai nepasirodo kontrolinis spalvotas ruoželis (ŽALIAS), nepaisant pasirodė ar ne rezultato linija (RAUDONA). Dažniausios kontrolinės linijos nesėkmės priežastys yra nepakankamas tūris, neteisingas procedūrinis metodas ar pablogėjusi reagentų kokybė. Peržiūrėkite procedūrą ir pakartokite naudodami naują testą peržiūrėkite procedūrą ir pakartokite testą. Jei trikdžiai išlieka, nutraukite testo naudojimą ir susisieki su vietos platintoju.

PASTABOS DĖL REZULTATŲ INTERPRETAVIMO

Raudono ruoželio spalvos intensyvumas rezultato zonoje (T) gali kisti priklausomai nuo antigeno koncentracijos mėginyje. Žinoma, nei antigeno kiekybinės reikšmės, nei didėjimo laipsnio šis kokybinis testas nenustato.

KOKYBĖS KONTROLĖ

I testą įeina ir vidaus procedūros kontrolė. Vidinė kontrolė yra žalia linija (C), pasirodanti kontrolės zonoje. Ji patvirtina pakankamą mėginio kiekį ir teisingą procedūros būdą.

APRIBOJIMAI

1. Testas turi būti atliktas per 2 valandas nuo sandarios pakuotės atidarymo.
2. Tik švieži arba šviežiai-užšaldyti, nekonservuoti ir kitaip nekeisti/netaisyti bandiniai gali būti testuojami.
3. Perteklinis išmatų mėginys gali duoti klaidingus rezultatus (pasirodo rudi ruoželiai). Atskieskite mėginį buferiu ir pakartokite testą.

4. Raudono ruoželio spalvos intensyvumas rezultato zonoje (T) gali kisti nuo labai intensyvios spalvos, kai antigeno koncentracija mėginyje yra didelė, iki blankios spalvos, kai antigeno koncentracija yra artima ribinei aptikimo vertei.
5. Vieną savaitę po infekcijos, bakterijų skaičius išmatose krenta, todėl bandiniai tampa nebe tokie reaktyvūs. Mėginys turėtų būti paimtas viena savaitė nuo simptomų atsiradimo.
6. CERTEST *E.coli* O157+VT1+VT2 kombinuotas testas turi būti naudojamas tik žmogaus išmatoms tirti. Kitokių mėginių tyrimo galimybė nenustatyta. Testo kokybė priklauso nuo mėginio kokybės; turi būti naudojamas tinkamas išmatų mėginys.
7. Teigiamas rezultatas nurodo *Escherichia coli* O157:H7, VT1 ir VT2 iš EHEC (įskaitant ne O157 STEC) buvimą išmatų mėginyje. Teigiamas rezultatas turi būti toliau tiriamas kitais laboratoriniais metodais (biocheminiais metodais ar PGR), kad būtų nustatytas kultūros kamienas (štamai). Infekcijos buvimą gali patvirtinti tik gydytojas po klinikinių ir laboratorinių tyrimų, atsižvelgiant į papildomų klinikinių stebėjimų rezultatų koreliaciją.
8. Neigiamas rezultatas nėra prasmingas, nes gali būti, kad antigeno koncentracija išmatų mėginyje yra mažesnė, nei testo aptikimo riba. Jei simptomai ir situacija išliekama tokia pat, EHEC nustatymas turi būti atliekamas iš sodrintos kultūros bandinio.
9. EHEC gaminamas Verotoksinas 1 (į Shiga panašus toksinas 1) yra labai panašus į tą, kurį gamina 1 tipo *Shigella dysenteriae* (Šigos toksinas). Verotoksinas 1 skiriasi nuo tikrojo Shiga toksino nuo vienos iki septynių aminorūgščių. CerTest *E. coli* O157+VT1+VT2 gali duoti teigiamą rezultatą ir dėl Shiga toksino, kurį gamina 1 tipo *Shigella dysenteriae*. EHEC ir 1 tipo *Shigella dysenteriae* nustatymas turėtų būti atliekamas naudojant selektyvią kultūrą ir biocheminę analizę.

TESTO CHARAKTERISTIKOS

Klinikinis jautrumas ir specifiškumas

Įvertinimas su išmatų mėginiais buvo atliktas naudojant imunochromatografinį testą (CerTest *E. coli* O157+VT1+VT2, CerTest) ir rezultatai buvo patvirtinti naudojant kultūrą (teigiami rezultatai). Rezultatai gauti tokie:

IC testas: CERTEST <i>E.coli</i> O157+VT1+VT2 (<i>E.coli</i> O157:H7)	Kultūra			
		+	-	Bendras
	+	5	0	5
	-	0	60	60
	Bendras	5	60	65

	Jautrumas	Specifiškumas	PPV	NPV
CERTEST <i>E.coli</i> O157+VT1+VT2 versus kultūra	>99%	>99%	>99%	>99%

Įvertinimas su išmatų mėginiais buvo atliktas naudojant imunochromatografinį testą (CerTest *E. coli* O157+VT1+VT2, CerTest) ir rezultatai buvo lyginami su kitu komerciniu Verotoksinų 1 ir 2 testu (Shiga Toxin Quik Chek, TechLab®). Rezultatai buvo tokie:

CerTest <i>E. coli</i> O157+VT1+VT2 (VT1 and VT2)	Shiga Toxin Quik Chek, TechLab®			
		+	-	Bendras
	+	4	0	4
	-	0	30	30
	Bendras	4	30	34

CERTEST E.coli O157+VT1+VT2 kombinuotas testas
Vieno žingsnio CERTEST E.coli O157+VT1+VT2 kombinuotas kasetės testas

	Jautrumas	Specifiškumas	PPV	NPV
CERTEST <i>E.coli</i> O157+VT1+VT2 versus Shiga Toxin Quik Chek	>99%	>99%	>99%	>99%

Rezultatai parodė aukštą jautrumą ir specifiškumą aptinkant *Escherichia coli* O157:H7 ir jos toksinus Verotoksina 1 ir Verotoksina 2, naudojant CerTest *E. coli* O157+VT1+VT2.

Kryžminis reaktyvumas

Vertinimas buvo atliktas siekiant nustatyti CerTest *E. coli* O157+VT1+VT2 kryžminį reaktyvumą. Nėra kryžminio reaktyvumo prieš virškinimo trakto patogenus, kurie kartais būna išmatose:

<i>Campylobacter coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Escherichia coli</i> O111	<i>Salmonella typhi</i>	Verotoxin 1 EHEC (juost. A ir C)
<i>Escherichia coli</i> O26	<i>Salmonella typhimurium</i>	Verotoxin 1 EHEC (juost. A ir B)
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (juost. B ir C)	<i>Shigella boydii</i>	<i>Yersinia Enterocolitica</i>
<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	

Nuorodos:

1. THOMPSON, J., HODGE, D. and BORCZYK, A.; "Rapid Biochemical Test to Identify Verocytotoxin-Positive Strains of *Escherichia coli* Serotype O157"; Journal of Clinical Microbiology, Oct. 1990, Vol. 28, No. 10, pp 2165-2168.
2. VALLANCE B.A. and FINLAY B.B., "Exploitation of host cells by enteropathogenic *Escherichia coli*", PNAS, August 2000, Vol. 97, No. 16, pp. 8799-8806.
3. BLANCO, M. et al. "Escherichia coli Verotoxigenicos (ECVT) en España: ECVT O157:H7 y NO-O157 en humanos y alimentos. El ganado bovino y ovino como reservorio. Técnicas para detección de ECVT" Laboratorio de Referencia de *Escherichia coli* (LREC), Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela, 27002 Lugo.

 **IVD**
 Teiraukitės naudojimo instrukcijos
 Laikyti sausai
 Limituojama temperatūra
 Naudoti iki
 **Control +** Teigiama kontrolė

 **LOT** Serijos numeris
 **REF** Katalogo numeris
 Σ Pakanka atlikti <n> testų
 Gamintojas
 **DIL** Skiediklis



CerTest
 BIOTEC S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1,
 50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza
 (SPAIN) www.certest.es



October 2014. Revision: 00
IU-RA287 rev. 00

UAB „Bioeksma“
 Mokslininkų g. 11, LT-08412 Vilnius, Lietuva
 Pardavimų vadybininkė Laura Norkutė
 E-paštas: laura.norkute@bioeksma.lt