












Serazym[®] Verotoxin 1+2

Enzymimmunoassay zum qualitativen Nachweis von Verotoxin 1 und 2 (Shiga-Toxin 1 und 2) in Stuhlproben humanen Ursprungs und aus Anreicherungskultur (Überstand)

REF E-030 Σ 96
IVD In-vitro-Diagnostikum **CE**

 **Seramun Diagnostica GmbH** • Sprenhagener Str. 1 • 15754 Heidesee • Germany •
T +49 33767 791-10 • info@seramun.com • www.seramun.com

| | | |
|---|--|---|
| UDI Eindeutige Produktidentifizierung | IVD In-vitro Diagnostikum |  Hersteller |
|  Land der Herstellung und Datum der Herstellung |  Nicht wiederverwenden | SN Seriennummer |
|  Begrenzung der Luftfeuchtigkeit |  Vor Sonnenlicht schützen | REF Artikelnummer |
|  Gebrauchsanweisung beachten |  Verwendbar bis | LOT Chargennummer |
|  Ausreichend für n Prüfungen |  Biologisches Risiko |  Temperaturbereich |
| | |  Achtung |

Zweckbestimmung

Serazym® Verotoxin 1+2 ist ein IVD-Test zur qualitativen Bestimmung von Verotoxin 1 und 2 (Shiga-Toxin 1 und 2) aus enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC) in Stuhlproben humanen Ursprungs und aus Anreicherungskultur (Überstand) zur manuellen oder semi-automatischen Abarbeitung durch einen Fachanwender in Laborumgebung.

Er dient der Diagnosehilfe einer EHEC-assoziierten Gastroenteritis in Patienten mit Symptomen einer Gastroenteritis und zum Screening von Verotoxin 1 und 2 (Shiga-Toxin 1 und 2) aus enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC) bei asymptomatischen Kontaktpersonen.

Testprinzip

Serazym® Verotoxin 1+2 ist ein Enzymimmunoassay auf der Basis polyklonaler und monoklonaler Antikörper gegen Verotoxin 1 (VT1) und 2 (VT2). Kulturüberstände bzw. verdünnte unbehandelte Stuhlproben sowie Negativ- und Positivkontrolle werden in die mit polyklonalen anti-VT1- und anti-VT2-Antikörpern beschichteten Kavitäten der Mikrotiterplatte dosiert.

Nach Inkubation werden ungebundene Komponenten durch einen Waschschrift entfernt und biotinylierte, monoklonale anti-VT1- und anti-VT2- Antikörper in die Kavitäten dispensiert. Nach erneuter Inkubation werden ungebundene Komponenten durch einen Waschschrift entfernt. Die gebundenen biotinylierten Antikörper reagieren in einem weiteren Inkubationsschritt mit Streptavidin-Peroxidase (HRP)-Konjugat. Nach einem erneuten Waschschrift setzt die HRP im folgenden enzymatischen Reaktionsschritt die farblose Substratlösung in ein blaues Reaktionsprodukt um. Diese Reaktion wird nach Inkubation durch Zugabe der Stopplösung beendet, wodurch ein Farbumschlag der blauen Lösung zu gelb auftritt. Die bei 450 nm Mess- und ≥ 620 nm Referenzfilter gemessene optische Dichte (OD) des Endprodukts ist zur Konzentration der spezifisch gebundenen VT1- und VT2-Antigene direkt proportional.

Testkomponenten (Lieferumfang)

| | | | Für 96 Kavitäten |
|-----|----------------------|---|--|
| 1 | WELLS | Mikrotiterplatte beschichtet mit $< 10 \mu\text{g/mL}$ polyklonalen anti-VT1 und anti-VT2- Antikörpern (Schaf) | 12 teilbare Streifen zu je 8 Kavitäten, Farbmarkierung orange, vakuumversiegelt mit Trockenbeutel |
| 2 | WASHBUF (10x) | Waschpuffer (10x) Seramun® Wash buffer A TRIS-basierter Puffer | 100 mL Konzentrat für 1000 mL Lösung, farblos, weiße Kappe |
| 3 | DIL | Probenpuffer Seramun® Sample diluent G TRIS-basierter Puffer | 100 mL, gebrauchsfertig, orange gefärbt, schwarze Kappe |
| 4 | CONTROL + | Positivkontrolle $< 1 \mu\text{g/mL}$ native <i>E. coli</i> -reaktive Probe (inaktiviert) | 2,0 mL, gebrauchsfertig, blau gefärbt, rote Kappe |
| 5 | CONTROL - | Negativkontrolle TRIS-basierter Puffer | 2,0 mL, gebrauchsfertig, blau gefärbt, grüne Kappe |
| 6/1 | CONJ BIOTIN | Biotin-Konjugat $< 5 \mu\text{g/mL}$ biotinylierte, monoklonale anti-VT1 und anti-VT2-Antikörper (Maus) | 15 mL, gebrauchsfertig, grün gefärbt, weiße Kappe |

| | | | |
|-----|--------------------|--|---|
| 6/2 | CONJ STREPT | Streptavidin-HRP-Konjugat < 1 µg/mL | 15 mL, gebrauchsfertig, rot gefärbt, grüne Kappe |
| 7 | SUBSTR | Substrat SeramunBlau® automat fast < 0,1 % 3,3',5,5'-Tetramethyl- benzidin; < 0,05 % Wasserstoffperoxid | 15 mL, gebrauchsfertig, farblos, blaue Kappe |
| 8 | STOP | Stopplösung SeramunBlau® stop 0,25 M Schwefelsäure | 15 mL, gebrauchsfertig, farblos, gelbe Kappe |
| 9 | | Analysenzertifikat | 1 Stück |
| 10 | | Gebrauchsanweisung | 1 Stück |

Für die Testdurchführung zusätzlich benötigte Materialien und Hilfsmittel

Verstellbare Einkanal-Mikropipette • 8-Kanal-Mikropipette bzw. Multikanal-Mikropipette mit Pipettenspitzen • Reagenzienbehälter zur Dispensierung mit Multikanal-Mikropipette • 8-Kanal-Handwaschkamm mit Vakuumpumpe und Abfallbehältern oder Mikrotiterplatten-Waschgerät • Mikrotiterplatten-Photometer mit 450 nm Mess- und ≥ 620 nm Referenzfilter • deionisiertes Wasser • Messzylinder • Teströhrchen für die Probenverdünnung • Anreicherungsmedium, z.B. mTryptic-Soy-Broth (mTSB) mit Mitomycin C

Wichtige Hinweise



Dieses Testbesteck ist nur zum *in-vitro* diagnostischen Gebrauch bestimmt und darf nur von geschultem Laborfachpersonal durchgeführt werden.

Die Gebrauchsanweisung ist strikt einzuhalten. Das Testbesteck und seine geöffneten Reagenzien sind nur innerhalb der angegebenen Haltbarkeitsfristen zu verwenden. Komponenten aus beschädigten Verpackungen bzw. Flaschen dürfen nicht verwendet werden. Die Komplettierung eines geöffneten Testbestecks mit Reagenzien anderer Hersteller ist nicht erlaubt.

Das Mischen von Testbesteckkomponenten verschiedener Chargen ist nicht erlaubt mit Ausnahme von Waschpuffer (10x), Probenpuffer, Substrat und Stopplösung.

Der Probenpuffer kann NICHT parameterübergreifend eingesetzt werden!

Der Waschpuffer und die Substrat- und Stopplösung können darüber hinaus Parameterübergreifend für die Serazym® Stuhlteste Adenovirus (E-017), Astrovirus (E-045), Norovirus (E-061), Rotavirus (E-020), Campylobacter (E-093), Clostridium difficile GDH (E-107), Clostridium difficile Toxin A+B (E-040), Cryptosporidium parvum (E-039), Entamoeba histolytica (E-018), Giardia (E-106) und H. pylori 2nd Gen. (E-114) eingesetzt werden.

Alle im Zusammenhang mit Serazym® Verotoxin 1+2 auftretenden schwerwiegenden Vorkommnisse sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaates, in dem Anwender und/oder Patient niedergelassen sind, zu melden.

Hinweise zur Testdurchführung

Die Lagertemperatur der Reagenzien bis zur Wiederverwendung beträgt 2...8 °C. Alle Testkomponenten vor Verwendung auf Raumtemperatur erwärmen. Reagenzien mit Anzeichen einer Kontamination sollten nicht verwendet werden.

Jede Kavität der Mikrotiterplatte kann nur einmal benutzt werden. Jede Probe und Kontrolle muss mit einer neuen Pipettenspitze pipettiert werden. Positiv- und Negativkontrolle sind gebrauchsfertig.

Bei größeren Probenserien empfiehlt sich das Pipettieren der Reagenzien aus Flüssigkeitsreservoirs mittels Mehrkanal-Mikropipette, um Zeitverzögerungen und Kontaminationen zu vermeiden. Die Reihenfolge der Pipettierschritte und die Dauer der Inkubationsschritte sind einzuhalten.

Die Durchführung der Absaug- und Waschschrte kann manuell oder mit Hilfe eines Mikrotiterplatten-Washers oder einer Wasserstrahlpumpe erfolgen. Beim Waschvorgang dispensierten, verdünnten Waschpuffer mindestens 5 s einwirken lassen und Waschpufferreste durch gründliches Absaugen oder Ausschlagen der Kavitäten entfernen!

Substrat vor Licht geschützt aufbewahren!

Sicherheitshinweise


Reagenzien nicht verschlucken und Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.

Beim Umgang mit den Komponenten des Testbestecks sowie mit Patientenproben und Kontrollen sind die Vorschriften zur Unfallverhütung beim Umgang mit potenziell infektiösem Material und gefährlichen Chemikalien zu beachten.

Zusätzliche Informationen über die Angaben in dieser Gebrauchsanweisung hinaus finden sich im Sicherheitsdatenblatt.

Das Produkt enthält folgende gefahrenbestimmende Substanz/en:

| Testkomponente | Gefahrenkennzeichnung und ergänzende Angaben zu Inhaltsstoffen |
|----------------------|---|
| WELLS | Enthält Material tierischen Ursprungs. |
| WASHBUF (10x) | EUH208: Enthält Gemisch aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Kann allergische Reaktionen hervorrufen. EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. Konservierungsmittel: < 0,0015 % Gemisch aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1); < 0,1 % 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan |
| DIL | Enthält Material tierischen Ursprungs. Konservierungsmittel: < 0,1 % Natriumazid |
| CONTROL + | Enthält Material mikrobiellen und tierischen Ursprungs. Konservierungsmittel: < 0,1 % Natriumazid |
| CONTROL - | Enthält Material tierischen Ursprungs. Konservierungsmittel: < 0,01 % Natriumazid |
| CONJ BIOTIN | EUH208: Enthält Gemisch aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Kann allergische Reaktionen hervorrufen. EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. Enthält Material tierischen Ursprungs. Konservierungsmittel: < 0,0015 % Gemisch aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1); < 0,1 % 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan |

| | |
|--------------------|---|
| CONJ STREPT | <p>EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. Enthält Material tierischen Ursprungs. Konservierungsmittel: < 0,01 % 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan</p> |
| SUBSTR | <p>Gefahrbestimmende Komponente: 2-Pyrrolidon Signalwort: Gefahr</p>  <p>H360: Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen. P201: Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen. P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P308+P313: BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Nur für gewerbliche Anwender. Konservierungsmittel: < 0,00015 % Gemisch aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1)</p> |
| STOP | - |

Grenzen der Methode

Der qualitative enzymimmunologische Nachweis von VT1 und VT2 lässt keine Korrelation zwischen gemessener OD und Schweregrad der Infektion zu. Die OD der Proben darf auch nicht mit der OD der Positivkontrolle in Korrelation gesetzt werden. Kreuzkontaminationen der Testbesteckreagenzien und Proben können zu falschen Ergebnissen führen. Unkorrekte Verdünnung, ungenügende Homogenisierung der Proben sowie nicht sedimentierte Festbestandteile in zentrifugierten Proben können sowohl zu falsch positiven als auch zu falsch negativen Ergebnissen führen. Ein negatives Ergebnis im Serazym® Verotoxin 1+2 schließt eine Infektion nicht aus. Ursachen falsch negativer Ergebnisse können einerseits durch einen ungünstigen Zeitpunkt der Probennahme und andererseits durch eine inhomogene Antigenverteilung in der Probe bedingt sein. Da der Toxingehalt der zu untersuchenden Stuhlproben häufig sehr niedrig ist, hat die selektive Anreicherung der VT-produzierenden Erreger in einem dafür geeigneten Medium entscheidenden Einfluss auf die Sensitivität des Nachweises im Serazym® Verotoxin 1+2. Die Gesamtinterpretation des Testergebnisses im ELISA sollte im Zusammenhang mit dem klinischen Bild erfolgen. Im Einzelfall können Wiederholungsuntersuchungen in mehrwöchigem Abstand hilfreich sein.

Behandlung der Proben

Probennahme

Stuhlprobe in geeignetem Probenentnahmegefäß sammeln.

Beispiel: Stuhlröhre, mit Löffel, Schraubverschluss, (LxØ): 107 x 25mm, transparent

Probenehaltbarkeit und -lagerung

Unbehandelte Stuhlproben sollten sofort nach Entnahme bei 2...8 °C oder bei -20°C gelagert werden und innerhalb von 72 h untersucht werden.

Der Kulturüberstand nach Anreicherung kann bis zu 5 Tagen bei 2...8 °C, bei Raumtemperatur oder bei -20°C gelagert werden. Wiederholtes (> 3x) Einfrieren und Auftauen des Kulturüberstandes nach Anreicherung ist wegen der Gefahr fehlerhafter Resultate zu vermeiden. Kulturüberstände nach Anreicherung, die bereits im Seramun® Sample diluent G entsprechend Gebrauchsanweisung verdünnt wurden, können bis zu 5 Tagen bei 2...8 °C gelagert und anschließend im ELISA untersucht werden.

Probenvorbereitung

Probensatz nach Anreicherung in einem Anreicherungsmedium

Unbehandelte Stuhlproben gut durchmischen. Etwa 100 bis 200 mg bzw. 100 bis 200 µL der zu untersuchenden Stuhlprobe in 4,5 mL Anreicherungsmedium, wie z. B. mTryptic-Soy-Broth (mTSB) mit Mitomycin C, überführen und möglichst unter Schütteln 18 – 20 h bei 37 °C inkubieren.

Achtung: Die Angaben des Herstellers des Anreicherungsmediums sind zu beachten.

Wegen möglicher inhomogener Verteilung von Verotoxin in der Matrix wird die Probennahme von zwei unterschiedlichen Stellen einer Stuhlprobe empfohlen. Anschließend die festen Bestandteile sedimentieren lassen oder gegebenenfalls in einer Mikrozentrifuge 1 min bei maximaler Drehzahl zentrifugieren. Der Kulturüberstand wird mit Probenpuffer 1 : 2 verdünnt: In ein Reaktionsgefäß 100 µL Probenpuffer pipettieren. Vom Kulturüberstand 100 µL in den Probenpuffer überführen und sorgfältig mischen.

Probensatz bei direktem Einsatz der Stuhlproben

Siehe Abschnitt Applikation

Behandlung der Reagenzien

Reagenzienhaltbarkeit und -lagerung

Das komplette Testbesteck mit verschlossenen Reagenzienflaschen und vakuumversiegelter Mikrotiterplatte ist bei Lagerung bei 2...8 °C bis zum aufgedruckten Verfalldatum haltbar. Alle geöffneten Testbesteckbestandteile sind bei ordnungsgemäßer Lagerung bei 2...8 °C bis zu 2 Monate haltbar. Der verdünnte Waschpuffer ist bei 2...8 °C bis zu 1 Monat haltbar.

Reagenzienvorbereitung

Die Mikrotiterplatte mit teilbaren Streifen ist in einem aluminiumbeschichteten Beutel zusammen mit Trockenmittel vakuumversiegelt. Öffnen der Verpackung erst nach Erreichen der Raumtemperatur. Nicht gebrauchte Kavitäten vor Feuchtigkeit schützen und zusammen mit dem Trockenmittel in den Beutel zurücklegen und verschließen. Waschpuffer (10x) 1 : 10 mit deionisiertem Wasser verdünnen. Beispiel: 10 mL Waschpuffer (10x) + 90 mL deionisiertes Wasser.

Testdurchführung

1. Testreagenzien und benötigte Anzahl an Kavitäten auf Raumtemperatur (RT) erwärmen und alle Reagenzien vor Gebrauch leicht schütteln, Schaumbildung vermeiden.
2. Je 120 µL **CONTROL +** Positivkontrolle
120 µL **CONTROL -** Negativkontrolle
100 µL verdünnter Kulturüberstand oder verdünnte Stuhlprobe pipettieren.
3. Platte abdecken und 60 min bei RT inkubieren.
4. Dekantieren und 5-mal mit 300 µL verdünntem Waschpuffer waschen. Restflüssigkeit gegebenenfalls durch Ausschlagen auf Zellstoff entfernen.
5. 120 µL **CONJ BIOTIN** Biotin-Konjugat pro Kavität hinzugeben.
6. Platte abdecken und 30 min bei RT inkubieren.
7. Dekantieren und 5-mal mit 300 µL verdünntem Waschpuffer waschen. Restflüssigkeit gegebenenfalls durch Ausschlagen auf Zellstoff entfernen.
8. 120 µL **CONJ STREPT** Streptavidin-HRP-Konjugat pro Kavität hinzugeben.
9. Platte abdecken und 30 min bei RT inkubieren.
10. Dekantieren und 5-mal mit 300 µL verdünntem Waschpuffer waschen. Restflüssigkeit gegebenenfalls durch Ausschlagen auf Zellstoff entfernen.
11. 120 µL **SUBSTR** Substrat pro Kavität hinzugeben.
12. 15 min **lichtgeschützt** bei RT inkubieren.
13. 120 µL **STOP** Stopplösung pro Kavität hinzugeben, kurz schütteln.
14. Messen der OD bei 450 nm Mess- und ≥ 620 nm Referenzfilter mit einem Mikrotiterplatten-Photometer innerhalb von 30 min.

Auswertung der Ergebnisse

Qualitative Auswertung

Cut-off Bestimmung: OD Negativkontrolle + 0,20

Proben mit OD-Werten gleich dem oder oberhalb des errechneten Grenzwertes sind als positiv, Proben mit OD-Werten unterhalb des errechneten Grenzwertes sind als negativ für VT1- und VT2-Antigene zu bewerten.

Der Test kann ausgewertet werden, wenn

- OD-Mittelwert der Negativkontrolle $\leq 0,20$ (manuelle Abarbeitung)
 $\leq 0,30$ (automatische Abarbeitung)
- OD-Mittelwert der Positivkontrolle $\geq 1,00$

erreicht.

Sind die genannten Gültigkeitskriterien nicht erfüllt, muss der Testansatz wiederholt werden. Die Abarbeitung muss gemäß Gebrauchsanweisung erfolgen (korrekte Reagenzienvorbereitung, korrekte Inkubationszeiten und -temperaturen, sorgfältiges Waschen). Sollten die Gültigkeitskriterien auch nach wiederholtem Testansatz nicht erfüllt sein, ist der Hersteller zu kontaktieren.

Interpretation der Ergebnisse

| | |
|---------|----------------|
| Positiv | \geq Cut-off |
| Negativ | $<$ Cut-off |

Aufgrund von Unterschieden in der Patientenzusammensetzung wird empfohlen, dass jedes Labor eigene Referenzbereiche bestimmen sollte.

Leistungsmerkmale

Präzision

Zur Bestimmung der Präzision wurden 4 Proben mit unterschiedlichem Verotoxin 2 (VT2)-Gehalt mehrfach bestimmt. Für die Bestimmung des Intra-Assay-Variationskoeffizienten (VK) wurden die Proben in einer 12-fachen Bestimmung in einem Testlauf vermessen. Die Bestimmung des Inter-Assay-Variationskoeffizienten erfolgte durch eine 3-fache Bestimmung in 11 verschiedenen Testläufen.

| Verotoxin 2 (pg/mL) | Intra-Assay-Variationskoeffizient | | Inter-Assay-Variationskoeffizient | |
|---------------------|-----------------------------------|--------|-----------------------------------|--------|
| | \bar{x} OD | VK (%) | \bar{x} OD | VK (%) |
| 3125 | 2,268 | 2,3 | 2,026 | 2,8 |
| 800 | 0,799 | 4,7 | 0,752 | 7,3 |
| 200 | 0,262 | 5,1 | 0,241 | 9,3 |
| 0 | 0,056 | 11,3 | 0,048 | 15,1 |

Nachweisgrenzen

Die untere Nachweisgrenze wurde für VT1 und VT2 durch getrennte Titration der gereinigten Toxine im Serazym® Verotoxin 1+2 mit < 100 pg/mL (< 10 pg/Kavität) bestimmt.

Sensitivität und Spezifität

Sensitivität und Spezifität des Serazym® Verotoxin 1+2 wurden im Rahmen einer retrospektiven Studie im Vergleich zu einem Verozellzytotoxizitätstest in 825 Stuhlproben bestimmt. Dabei handelte es sich um 795 auf pathogene Darmerreger zu untersuchende und 30 durch Shiga-Toxin-Gen-PCR und Kultur vorcharakterisierte und bis zur Testung bei -20 °C gelagerte Stuhlproben. Die Testung im ELISA erfolgte nach Voranreicherung der Proben (mTSB; 18 – 20 h bei 37 °C).

| n = 30 | | Zytotoxizitätstest | |
|----------------|---------|--------------------|---------|
| | | positiv | negativ |
| Serazym® ELISA | positiv | 11 | 0 |
| | negativ | 2 | 17 |

Sensitivität: 84,6 %

| n = 795 | | Zytotoxizitätstest | |
|----------------|---------|--------------------|---------|
| | | positiv | negativ |
| Serazym® ELISA | positiv | 0 | 2 |
| | negativ | 0 | 793 |

Spezifität: 99,8 %

Kreuzreaktivität

Die mikrobiologische Routinediagnostik der im Rahmen der klinischen Studie untersuchten Stuhlproben ergab bei 141 Proben einen positiven Erregernachweis. Diese Erreger konnten insgesamt 12 verschiedenen Bakterien-Spezies zugeordnet werden:

Staphylococcus aureus, Enterotoxin-positive und -negative *E. coli*-Stämme (EHEC); *Clostridioides difficile* Toxin-positive Stämme; *Pseudomonas aeruginosa*; *Salmonella* spp. (u.a. *Salmonella typhimurium* und *Salmonella enteritidis*); *Aeromonas hydrophila*; *Aeromonas caviae*; *Campylobacter* spp.; *Hafnia alvei*; *Yersinia enterocolitica* O:3.

Keiner der Erreger verursachte falsch positive Ergebnisse im Serazym® Verotoxin 1+2.

Probenvorbereitung

Probenansatz bei direktem Einsatz der Stuhlproben

Unbehandelte Stuhlproben gut durchmischen und mit Probenpuffer 1:3,5 verdünnen. In ein Reaktionsgefäß 500 µL Probenpuffer pipettieren. Bei festen oder halbfesten Stuhlproben 200 mg (etwa 4 - 6 mm im Durchmesser) mit einem Einmalstäbchen, bei flüssigen Stuhlproben 200 µL in den Probenpuffer überführen und sorgfältig mischen. Gegebenenfalls Schwebeteilchen durch Zentrifugation in einer Mikrozentrifuge 1 min bei maximaler Drehzahl sedimentieren. Wegen möglicher inhomogener Verteilung von Verotoxin in der Matrix wird die Probenahme von zwei differenten Stellen einer Stuhlprobe empfohlen.

Achtung: Der direkte Einsatz von Stuhlproben im Serazym® Verotoxin 1+2 ELISA ohne vorherige Anreicherung kann nur als Vorscreening zum Erhalt eines ersten Ergebnisses dienen. Eine anschließende Untersuchung der entsprechenden Probe nach Anreicherung sollte zusätzlich erfolgen, um eine ausreichend hohe Sensitivität zu gewährleisten.

Ein negatives ELISA-Ergebnis bei Einsatz einer nicht angereicherten Stuhlprobe schließt aufgrund der geringeren Sensitivität eine EHEC-Infektion nicht aus!

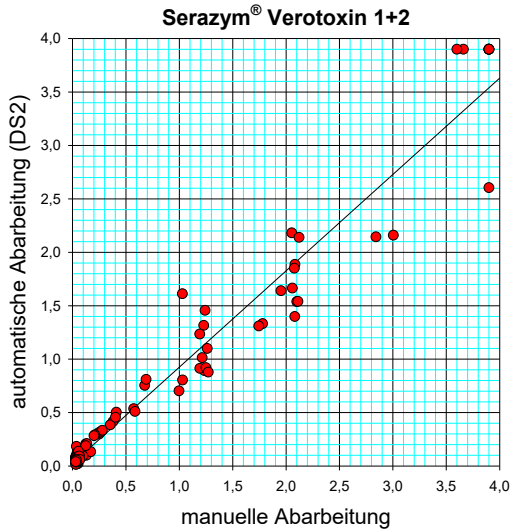
Automatische Abarbeitung

Es liegt in der Eigenverantwortung des Anwenders, die Mikrotiterplatten-Automaten und zugehörige Anwendungsdateien vor Verwendung mit diesem Produkt zu validieren. Für zugehörige Anwendungsdateien zur Nutzung der unten genannten Mikrotiterplatten-Automaten kann der örtliche Distributor kontaktiert werden.

Bei Abarbeitung des Serazym® Verotoxin 1+2 auf einem Mikrotitrationsplatten-Vollautomaten (z.B. DS2®, DSX®; Dynex Technologies; ThunderBolt®, Gold Standard Diagnostics) können in Abhängigkeit vom verwendeten Gerät und von den individuellen Geräteeinstellungen im Vergleich zur manuellen Abarbeitung höhere OD-Werte gemessen werden. In diesen Fällen ist die Erhöhung des maximal zulässigen Grenzwertes der Negativkontrolle auf OD = 0,3 zulässig. Für den Waschprozess ist die Programmierung von Waschpuffer-Einwirkzeiten (mindestens 10 s pro Streifen und Waschschrift) gefolgt von einem Waschschrift mit deionisiertem Wasser und 10 s Einwirkzeit zu empfehlen. Gegebenenfalls kann die Anzahl der Waschschriffe auf 7x bis 8x erhöht werden.

Korrelation: manuelle – automatische Abarbeitung

Im Rahmen der Untersuchung von 188 Stuhlproben wurde bei parallel durchgeführter manueller und automatischer Abarbeitung (DS2®, Dynex Technologies) ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,98$ ermittelt.



Änderungshistorie

| Version | Abschnitt | Änderungen |
|---------|---|--|
| 2026-04 | Deckblatt | Anpassung Artikelnummer an Verpackungskonzept |
| | Testkomponenten (Lieferumfang) | Anpassung Volumina an Verpackungskonzept, Ergänzung Menge oder Konzentration des wirksamen Bestandteils |
| | Für die Testdurchführung zusätzlich benötigte Materialien und Hilfsmittel | Ergänzung „Reagenzienbehälter zur Dispensierung mit Multikanal-Mikropipette“ |
| | Wichtige Hinweise | Tabelle unter „Sicherheitshinweise“ Anpassung an die Kennzeichnung auf dem Etikett |
| | Behandlung der Proben | Ergänzung Beispiel Probengefäß; Ergänzung von Daten zu Kulturüberständen bei „Probenhaltbarkeit und -lagerung“ |
| | Testdurchführung | Anpassung an Verpackungskonzept |
| 2026-05 | Testdurchführung | Anpassung „Platte abkleben“ zu „Platte abdecken“ |
| | Applikation: Automatische Abarbeitung | Aufnahme Eigenverantwortung des Anwenders |