

## KIT DEL REAGENTE PER IL TEST AL LATTICE DELL'*E. coli* O157 PROLEX™



pro-lab.com/resources

PL.070B



50

PL.071B



100

REF PL.070B

REF PL.071B

REF PL.076B

### ISTRUZIONI PER L'USO

#### IMPIEGO PREVISTO

Il kit del reagente per il test al lattice *E. coli* O157 Prolex™ è un kit per test di agglutinazione utilizzato per l'identificazione presuntiva del sierogruppo O157 di *Escherichia coli*.

#### INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST

Il sierotipo O157:H7 dell'*Escherichia coli* è un patogeno che produce la tossina di Shiga.<sup>1,2</sup> Questo sierotipo è stato indicato come agente eziologico in casi sporadici ed epidemici di colite emorragica.<sup>3,4,5</sup> È inoltre associato alla sindrome uremica emolitica.<sup>6</sup> Anche certi sierotipi di *E. coli* diversi dallo O157:H7 producono la tossina di Shiga.<sup>7,8,9</sup> Tuttavia, la diarrea causata da questi sierotipi diversi generalmente non presenta sangue. Inoltre, il sierotipo O157:H7 dell'*E. coli* non fermenta il sorbitolo, cosa che invece accade con la maggior parte degli altri sierotipi.<sup>10,11</sup> Di conseguenza, se si effettua uno screening primario con il sorbitolo MacConkey agar, le colonie del sierotipo O157 dell'*E. coli* sono incolore (colonie non fermentanti il sorbitolo, [NSFC]), mentre le colonie di altri sierotipi hanno la caratteristica colorazione rosa (colonie fermentanti il sorbitolo, SFC).<sup>11</sup>

#### PRINCIPIO DEL METODO

Le particelle di lattice di polistirene utilizzate in questo kit sono ricoperte con un anticorpo contro l'antigene somatico O157 dell'*E. coli*. Quando queste particelle di lattice vengono mischiate con colonie fresche del sierogruppo O157 di *E. coli*, i batteri si legano all'anticorpo causando l'agglutinazione delle particelle di lattice (reazione positiva). I batteri che non appartengono al sierogruppo O157 di *E. coli* non si legano all'anticorpo e non agglutinano (reazione negativa).

#### MATERIALI FORNITI

Il kit PL.070B è sufficiente per 50 test. Il kit PL.071B è sufficiente per 100 test. I materiali sono forniti pronti all'uso.

- Reagente al lattice O157 *E. coli* Prolex™ (PL.072B / PL.073B): Un flacone con contagocce contenente 3,1 ml (PL.070B) o 6,2 ml (PL.071B) di particelle di lattice rivestite di IgG purificate di coniglio che reagiscono con il sierogruppo O157 di *E. coli*. Le particelle di lattice sono risospese in tampone contenente 0,098% sodio azide come conservante.
- Controllo positivo O157 *E. coli* Prolex™ (PL.074B / PL.075B): Un flacone con contagocce contenente 1,5 ml (PL.070B) o 3,0 ml (PL.071B) di sospensione di controllo positivo contenente un antigene del sierotipo O157:H7 dell'*E. coli* prodotto mediante raccolta e inattivazione di colonie del sierotipo O157:H7 dell'*E. coli* cresciute su terreno solido. L'antigene è risospeso in tampone contenente 0,095% sodio azide come conservante.
- Reagente al lattice per controllo negativo O157 *E. coli* Prolex™ (PL.077B / PL.076B): Un flacone con contagocce contenente 1,5 ml (PL.070B) o 3,0 ml (PL.071B) di particelle di lattice rivestite di IgG purificate di coniglio che non reagiscono con il sierogruppo O157 di *E. coli*. Le particelle di lattice sono risospese in tampone contenente 0,098% sodio azide come conservante.
- Test card
- Mixing stick

#### MATERIALE NECESSARIO, MA NON FORNITO

- Soluzione fisiologica (0,85% di cloruro di sodio) o soluzione salina tamponata con fosfato (PBS)
- Standard McFarland 3.0, 4.0 o 5.0
- Provette 12 x 75 mm
- Ago o ansa per inoculazione
- Pipette Pasteur

## STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Tutti i reagenti devono essere conservati a 2 – 8 °C. I reagenti conservati in queste condizioni resteranno stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta del prodotto. **Non congelare.**

## AVVERTENZE E PRECAUZIONI

1. Esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
2. Non usare i reagenti oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.
3. I reagenti contengono < lo 0,098% di sodio azide. Il sodio azide può reagire in modo esplosivo con le condutture in rame o piombo se lasciato accumulare. Benché la quantità di sodio azide nei reagenti sia minima, è necessario utilizzare una grande quantità di acqua quando si scaricano nel lavandino i reagenti utilizzati.
4. È necessario adottare precauzioni universali nella manipolazione, nel trattamento e nello smaltimento di tutti i campioni clinici. Tutti i materiali di analisi devono essere considerati potenzialmente infettivi durante e dopo l'uso e devono essere manipolati e smaltiti in modo appropriato.
5. Non utilizzare i reagenti al lattice al lattici in presenza di segni evidenti di autoagglutinazione. Questa può avere luogo sotto forma di agglutinazione del reagente al lattice O157 *E. coli* Prolex™ in assenza di isolato oppure sotto forma di agglutinazione del reagente al lattice per controllo negativo in presenza di antigene per il controllo positivo o di isolato.
6. Per ottenere risultati attendibili è necessario seguire scrupolosamente le procedure, le condizioni di conservazione, le precauzioni e le limitazioni descritte in queste istruzioni.
7. I reagenti contengono materiali di origine animale e devono essere manipolati come potenziale portatori e trasmettitori di malattie.

## PREPARAZIONE DELLE COLTURE

Seminare i campioni clinici su terreno Sorbitolo MacConkey Agar. Testare le colonie non fermentanti il sorbitolo (NSFC) direttamente o da una sottocultura su un terreno solido non selettivo. Prelevare con cura dalla superficie dell'agar le colonie cresciute durante la notte (18 - 24 ore) usando un'ansa o un ago sterili. I migliori risultati si ottengono generalmente con culture fresche a crescita rapida.

## METODO DI TEST

1. Prima dell'uso lasciare che tutti i reagenti raggiungano la temperatura ambiente.
2. Risospendere il reagente al lattice capovolgendo delicatamente il flacone contagocce più volte. Esaminare i flaconi contagocce per assicurarsi che le particelle di lattice siano correttamente sospese prima dell'uso. Non utilizzare se il lattice non si risospende.
3. Utilizzando una pipetta, trasferire 0,2 ml di soluzione fisiologica o soluzione fisiologica tamponata con fosfato in una provetta da 12 x 75 mm.
4. Selezionare un numero sufficiente di colonie dalla piastra utilizzando un'ansa o un ago sterili e preparare una sospensione in soluzione fisiologica normale o in soluzione tamponata con fosfato per ottenere una torbidità corrispondente a uno standard 3 -5 McFarland.–
5. Depositare una goccia di reagente al lattice O157 *E. coli* Prolex™ in uno dei cerchi presenti su una delle test card in dotazione. Utilizzando una pipetta Pasteur aggiungere una goccia della sospensione nello stesso cerchio e miscelare utilizzando uno dei mixing stick in dotazione.
6. Inclinare delicatamente la card e dopo un paio di minuti verificare la presenza di agglutinazione.
7. Gli isolati che danno un risultato positivo al reagente al lattice O157 *E. coli* Prolex™ devono essere ritestati ripetendo la procedura con il reagente al lattice per controllo negativo Prolex™.

## CONTROLLO QUALITÀ

Prima di eseguire gli isolati, testare il reagente al lattice O157 *E. coli* Prolex™ e il reagente al lattice per controllo negativo Prolex™ utilizzando il controllo positivo Prolex™. Con il reagente al lattice O157 *E. coli* Prolex™ l'agglutinazione deve avere luogo entro due minuti mentre con il reagente al lattice per controllo negativo Prolex™ non vi deve essere alcuna agglutinazione.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati del Kit del reagente per il test al lattice *E. coli* O157 Prolex™ con il campione di test si interpretano come da tabella seguente:

Reagente al lattice O157 <i>E. coli</i>	Reagente al lattice – controllo negativo	Interpretazione
+	-	Presuntivo per O157 dell' <i>E. Coli</i>
+	+	Risultato inconclusivo
-	non effettuato	Indica assenza di O157 dell' <i>E. Coli</i>
Aspetto filamentoso o mucoide	non effettuato	Ininterpretabile

**Risultato positivo:** Agglutinazione visibile delle particelle del lattice blu entro 2 minuti

**Risultato negativo:** nessuna agglutinazione delle particelle di lattice entro 2 minuti

**Inconclusivo:** l'agglutinazione visibile delle particelle di lattice con il reagente al lattice *E. coli* O157 e il reagente al lattice di controllo negativo indica la presenza di un ceppo agglutinante o cross-reattivo. Eseguire ulteriori test per escludere l'O157 dell'*E. coli*.

**Ininterpretabile:** aspetto filamentoso o mucoide con il reagente al lattice *E. Coli* O157. Versare la sospensione fresca di colonie nella soluzione fisiologica e lasciare depositare gli. Rianalizzare il super- natante.

## LIMITI DEL METODO

1. Analizzare solo le colonie che mostrano la tipica morfologia a colonia sul sorbitolo MacConkey Agar (non fermentanti il sorbitolo).
2. Confermare i risultati positivi ottenuti con analisi biochimiche di routine.
3. Questo reagente è stato sviluppato per rilevare la presenza di antigene del sierogruppo O157 dell'*E. coli*. Anche alcuni altri ceppi O157 di *E. coli* (ad es. O157:H16) che non sono fermentanti il sorbitolo danno un risultato positivo quando analizzati con questo test.<sup>1,12,13</sup>
4. Sebbene questo test sia stato appositamente sviluppato per ridurre la normale reattività incrociata di *Escherichia hermanii*<sup>12</sup>, è possibile che alcuni rari ceppi presentino tale reattività.

## PERFORMANCE DEL METODO












Le performance cliniche del kit O157 *E. coli* Prolex™ sono state valutate in un laboratorio ospedaliero di microbiologia. Complessivamente sono stati sottoposti a cultura campioni di feci contenenti sangue di 474 pazienti con diarrea, colite emorragica o sindrome uremica emolitica. Di questi 474 campioni, 47 hanno sviluppato colonie sorbitolo-negative che sono state identificate come positive per il ceppo O157 di *E. coli* con un test commerciale. Questi risultati sono stati ulteriormente confermati da test biochimici convenzionali. Tutti i 47 isolati hanno dato reazione positiva quando analizzati utilizzando il kit di reagente al lattice O157 *E. coli* Prolex™ (47/47: 100% di sensibilità).

## BIBLIOGRAFIA

1. Konowalchuk J., Speirs J.I., Stavric S. 1977. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. Infect. Immun. 18:775-779.
2. Ratnam S., March S.B., Ahmed R., Bezanson G.S., Kasatiya S. 1988. Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7. J. Clin. Microbiol. 26:2006-2012.
3. C.D.C. 1982. Isolation of *E. coli* O157:H7 from sporadic cases of hemorrhagic colitis. United States MMRW 31:580-585.
4. Johnson W.M., Lior H., Bezanson G.S. 1983. Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 associated with haemorrhagic colitis in Canada. Lancet i:76.
5. Krishnan C., Fitzgerald V., Dakin S., Behme R.J. 1987. Laboratory investigation of outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7. J. Clin. Microbiol. 25:1043-1047.
6. Karmali M.A., Steele B.T., Petric M., Lim C. 1983. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. Lancet. i:619-620.
7. Karmali M.A., Petric M., Lim C., Cheung R., Arbus G.S. 1985. Sensitive method for detecting low numbers of verotoxin-producing *Escherichia coli* in mixed cultures by use of colony sweeps and polymyxin extraction of verotoxin. J. Clin. Microbiol. 22:614-619.
8. Law D. 1988. Virulence factors of enteropathogenic *Escherichia coli*. J. Med. Microbiol. 26:1-10.

9. Scotland S.M., Day N.P., Rowe B. 1980. Production of a cytotoxin affecting vero cells by strains of Escherichia coli belonging to traditional enteropathogenic serogroups. FEMS Microbiol. Lett. 7:15-17.
10. Farmer III J.J., Davis B.R. 1985. H7 Antiserum-sorbitol fermentation medium: a single tube screening medium for detecting Escherichia coli O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J. Clin. Microbiol. 22:620-625.
11. March S.B., Ratnam S. 1986. Sorbitol-MacConkey medium for detection of Escherichia coli O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J. Clin Microbiol. 23:869-872.
12. Borczyk A., Lior H., Cebin B. 1987. False positive identification of Escherichia coli in foods. Int. J. Food Microbiol. 4:347-349.
13. Thompson J.S., Hodge D.S., Borczyk A.A. 1990. Rapid biochemical test to identify verocytotoxin-positive strains of Escherichia coli serotype O157. J. Clin. Microbiol. 28:2165-2168.

## GLOSSARIO DEI SIMBOLI

Simbolo	Significato
	Produttore
	Data di scadenza
	Codice di lotto
	Numero di catalogo
	Limite di temperature
	Consultare le istruzioni per l'uso o consultare le istruzioni per l'uso in formato elettronico.
	Dispositivo medico diagnostico in vitro
	Quantità sufficiente per (n) test
	Marchio CE (Conformità europea)
	Marchio UKCA (Conformità Regno Unito)
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Unione Europea

Le presenti istruzioni per l'uso sono state accuratamente tradotte dalla versione originale in lingua inglese. In caso di ambiguità o apparente discrepanza rivolgersi al servizio assistenza Pro-Lab.

### Pro-Lab Diagnostics U.K.

3 Bassendale Road, Bromborough,  
Wirral, Merseyside CH62 3QL  
United Kingdom  
Tel.: 0151 353 1613  
www.pro-lab.co.uk  
E-mail: uksupport@pro-lab.co.uk



### Pro-Lab Diagnostics Canada

20 Mural Street, Unit #4  
Richmond Hill, Ontario L4B 1K3  
Canada  
Tel.: 905-731-0300  
www.pro-lab.com  
E-mail: support@pro-lab.com

### Pro-Lab Diagnostics U.S.A.

1301 Blue Ridge Drive, Suite #101  
Georgetown, Texas 78626-3269  
United States  
Tel.: 512-832-9145  
www.pro-lab-direct.com  
E-mail: support@pro-lab.us



Advena Ltd. Tower Business Centre, 2<sup>nd</sup> Floor, Tower Street, Swatar, BKR 4013 Malta