

**IMPIEGIO PREVISTO**

L'antisiero per *E. coli* 0157 Pro-Lab E. è concepito per un uso nel test di agglutinazione su vetrino per l'identificazione presuntiva dell'antigene del sierotipo 0157 dell'*Escherichia coli* su terreno di coltura da laboratorio.

**INTRODUZIONE E OBIETTIVO DEL TEST**

Il sierotipo 0157:H7 dell'*Escherichia coli* è un patogeno che produce verotossina (produce VT).<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 0157:H7 producono verotossina.<sup>7,8,9</sup> Tuttavia, la diarrea causata da questi sierotipi diversi generalmente non presenta sangue. Inoltre, il sierotipo 0157: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 0157 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>

Il lavoro svolto da Kauffmann<sup>12</sup>, Edward e Ewing<sup>13</sup>, Ewing<sup>14</sup> e Orskov<sup>15</sup> ha contribuito allo sviluppo di un sistema per l'atipizzazione sierologica di colture di *E. coli* ed ha portato alla formulazione di uno schema di classificazione antigenico, utilizzabile per identificare i sierotipi dell'*Escherichia coli* associata batteriuria o patologia diarroica.

Il principio del test prevede la miscelazione degli organismi sospetti con l'antisiero contenente gli anticorpi dell'*E. coli* 0157. I batteri agglutinano (si aggregano) alla presenza dell'antisiero omologo.

**REAGENTI**

L'antisiero dell'*E. coli* 0157 Pro-Lab è preparato con siero delipidizzato, completamente adsorbito di coniglio, contenente gli anticorpi dell'*E. coli* sierotipo 0157.

L'antisiero deve essere utilizzato per l'identificazione presuntiva o la conferma delle colture precedentemente caratterizzate con metodo biochimico.

L'antisiero dell'*E. coli* 0157 Pro-Lab è fornito in un flacone gocciolatore contenente 3.0 ml di antisiero diluito pronto all'uso con 0,01% di thimerosal come conservante.

**AVVERTENZE**

1. Non usare gli antisieri oltre la data di scadenza indicata sulla confezione.
2. L'antisiero contiene thimerosal, un composto a base di mercurio, molto tossico. Sebbene la quantità di thimerosal nell'antisiero sia minima, occorre adottare precauzioni di sicurezza durante la manipolazione, il trattamento e lo smaltimento del reagente.
3. Evitare la contaminazione del flacone di reagente.
4. Al momento della manipolazione, elaborazione e smaltimento di tutti i campioni clinici è necessario adottare precauzioni universali. Tutti i materiali dei test devono essere considerati potenzialmente infettivi sia durante che dopo l'uso e pertanto vanno maneggiati e smaltiti adeguatamente.
5. Il reagente è destinato esclusivamente ad uso diagnostico *in vitro*.
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. Il prodotto contiene materiale di origine animale e deve essere manipolato come potenziale portatore e trasmettitore di malattie.

**MATERIALE NECESSARIO, MA NON FORNITO**

- Vetrini
- Salina normale (soluzione allo 0,85% di cloruro di sodio)
- Anse usa e getta o anse in filo
- Stecchini

**STABILITÀ E CONSERVAZIONE**

L'antisiero dell'*E. coli* 0157 Pro-Lab deve essere conservato ermeticamente chiuso a 2° - 8°C. Se conservato alle condizioni indicate l'antisiero può essere usato fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

**CAMPIONAMENTO E PREPARAZIONE DELLA CULTURA**

Seminare il campione su terreno Sorbitolo MacConkey Agar. Le NSFC possono essere sviluppate in subcoltura su terreno agar non-selettivo. Prelevare con cura dalla superficie dell'agar le colonie cresciute durante la notte usando un'ansa sterile. Colture fresche a rapido sviluppo rispondono al test con i risultati tipici.

**PROCEDURA**

1. Mettere due gocce separate di salina normale (0,85% di cloruro di sodio) su un vetrino pulito.
2. Prelevare una colonia sospetta di *Escherichia coli* da una piastra di una coltura cresciuta nella notte e miscelare bene con le due gocce di salina normale sul vetrino fino ad ottenere una sospensione omogenea.
3. Aggiungere una goccia di antisiero ad una delle gocce della sospensione batterica sul vetrino, all'altra (il controllo) aggiungere una goccia di salina normale.
4. Miscelare l'antisiero con la sospensione batterica utilizzando lo stecchino. Quindi miscelare la salina (controllo) con uno stecchino nuovo.
5. Scuotere delicatamente il vetrino in avanti e all'indietro per un minuto ed osservare l'agglutinazione in condizioni di luce normale e utilizzando un obiettivo a bassa potenza.

**INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

Un'agglutinazione evidente (aggregato granulare) nel test dell'antisiero, entro 60 secondi, è considerata un risultato positivo. Nel controllo di salina non deve essere presente agglutinazione di alcun genere; in caso contrario, il test non è valido (auto-agglutinazione).










**LIMITI DEL METODO**

1. Per garantire la specificità della reazione ogni test dovrebbe comprendere un controllo con salina normale.
2. I ceppi virulenti producono auto-agglutinazione nei test su vetrino. I falsi positivi di solito agglutinano nella salina di controllo.
3. Si raccomanda il controllo della potenza degli antisieri dell'*Escherichia coli* con stock-colture a struttura antigenica nota.

**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 0157:H7. *J. Clin. Microbiol.* **26**:2006-2012.
3. **C.D.C.** 1982. Isolation of *E. coli* 0157: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* 0157:H7 associated with hemorrhagic 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*

- 0157: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 *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* 0157: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* 0157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J. Clin. Microbiol.* **23**:869-872.
12. **Kauffmann, F.** 1947. *J. Immunology* **57**:71-100.
13. **Edwards, P.R. and Ewing, W.H.** 1972. Identification of Enterobacteriaceae. 3rd edition. Burgess. Minneapolis, Minnesota.
14. **Ewing, W.H.** 1969. *Public Health Lab.* **27**:19-30.
15. **Orskov, F.** 1956. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.* **29**:373.

	= Utilizzare per
	= Numero di lotto
	= Numero di catalogo
	= Produttore
	= Mandatario nella Comunità Europea
	= Enthält genügend (Material) für (n) Tests
	= Medizinprodukt für die in vitro Diagnostik.
	= Temperaturbegrenzung
	= Beachten Sie die Gebrauchsanleitung

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.

Ultima revisione: 2021 01