

## E. COLI O157 RAPID LATEX TEST KIT

Per uso diagnostico *in Vitro*Test di agglutinazione al lattice su card per l'identificazione confermativa di colonie di *E. coli*

### DESTINAZIONE D'USO

*E. coli* O157 Rapid Latex Test Kit è un test rapido d'agglutinazione al lattice indicato per l'identificazione di conferma di ceppi di *E. coli* sierogruppo O157 cresciuti su terreni selettivi partendo da campioni fecali umani. Il test permette la rapida differenziazione di *E. coli* O157 dagli altri sierotipi di *E. coli* e dai microrganismi isolati da pazienti con diarrea. Il kit è da impiegare per uso esclusivamente diagnostico in laboratorio.

### PRINCIPIO DEL TEST

Le particelle di lattice sono adese ad anticorpi diretti contro l'antigene lipopolisaccaridico O157 di *E. coli* O157:H7. Nel momento in cui le particelle di lattice sensibilizzate sono miscelate con una sospensione contenente gli antigeni di *E. coli* O157, si manifesta una reazione immunochimica sensibile e specifica che determina l'agglutinazione delle particelle di lattice finemente disperse a formare aggregati facilmente visibili a occhio nudo.

### MATERIALI FORNITI NEL KIT

**REAG TEST EC1:** Reagente al lattice per *E. coli* O157: 2,5 mL- Particelle di lattice sensibilizzate con anticorpi di coniglio diretti contro *E. coli* O157. Contiene sodio azide allo 0,099% come conservante. (Tappo rosso gocciolatore)

**REAG CONTROL:** Reagente di controllo al lattice 2.5mL - Particelle di lattice sensibilizzate con anticorpi di coniglio aspecifici, con aggiunta dello 0,099% di sodio azide come conservante. (Tappo verde gocciolatore)

**SAMPLE DILUENT:** Soluzione salina isotonica allo 0,9%: 5,0 mL- Contiene sodio azide allo 0,095% come conservante. (Tappo *giallo*)

**20 CARD (SLIDE):** monouso per il test di agglutinazione, ciascuna con 6 aree test

**100 BASTONCINI:** 4x25 bastoncini per miscelazione, monouso

**PIPETTA:** N.1

### ISTRUZIONI PER L'USO

#### MATERIALI NECESSARI MA NON COMPRESI NEL KIT:

- Anse batteriologiche
- Piastre di Mac Conkey Sorbitol Agar

#### AVVERTENZE E PRECAUZIONI

##### Per la sicurezza:

- I reagenti forniti nel kit sono esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.
- L'azide sodica, utilizzata come conservante nei reagenti del kit può reagire con le tubature in piombo o in rame formando sali metallici potenzialmente esplosivi. Smettere sciacquando abbondantemente con acqua per evitare l'accumulo di azidi.
- Prendere le necessarie precauzioni quando si maneggiano o si smaltiscono ceppi potenzialmente patogeni. Per la decontaminazione del materiale infetto utilizzare ipoclorito di sodio a una concentrazione finale del 3% per 30 minuti. Gli scarti liquidi contenenti acido devono essere neutralizzati prima di eliminarli.

##### Procedurali:

- Utilizzare *E. coli* O157 Rapid Latex Test Kit in conformità alle istruzioni del kit.
- Attendere che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente prima dell'uso.
- Non diluire i reagenti del kit.
- Non scambiare tra loro reagenti provenienti da kit di lotti diversi.
- Non congelare i reagenti del kit.
- Fare in modo che il contagocce del reagente al lattice non tocchi il campione batterico.
- Assicurarsi che lo slide per l'agglutinazione sia pulito e asciutto prima dell'uso
- Porre molta attenzione al paragrafo "Controllo Qualità"
- Fare attenzione a registrare solo l'agglutinazione. Le reazioni "coagulate" o "filamentose" possono non essere vere agglutinazioni.

#### CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

*E. coli* O157 Rapid Latex Test Kit deve essere conservato a 2-8°C. In queste condizioni i reagenti del kit mantengono la loro validità fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta della scatola.

#### CAMPIONI

I campioni dei pazienti (campioni di feci emorragiche) vanno seminati su Sorbitol Mac Conkey Agar (contenente l'1% di D-sorbitolo invece di lattosio). Incubare in aerobiosi a 35-37°C per 18-24 ore. I ceppi di *E. coli* O157:H7 potenzialmente patogeni appaiono come colonie incolori morfologicamente simili agli altri ceppi di *E. coli*.

#### PROCEDURA

##### Controllo di Qualità:

I seguenti controlli devono essere eseguiti ogni volta prima dell'impiego del kit per assicurarsi il corretto funzionamento dei reagenti:

- 1. Reagente di controllo:** Porre 1 goccia di **REAG CONTROL** e 1 goccia di **REAG TEST EC1** su due pozzetti separati di un cartoncino di reazione. Aggiungere 1 goccia di **SAMPLE DILUENT** a ciascuna goccia di lattice e miscelare separatamente ciascuna sospensione spargendo il liquido sull'intera superficie dei pozzetti. Agitare delicatamente il cartoncino per 30 secondi e osservare l'eventuale agglutinazione in entrambi i pozzetti. Se questa si verifica i reagenti al lattice o la soluzione salina manifestano una reazione non specifica e vanno scartati.
- 2. Controllo positivo:** Preparare una sospensione omogenea di una cultura nota di *E. coli* O157 su due pozzetti di un cartoncino di reazione (vedi il procedimento del test descritto sotto). Agitare delicatamente il cartoncino per 30 secondi e osservare l'eventuale agglutinazione. Se non si verifica autoagglutinazione in entrambi i pozzetti, aggiungere 1 goccia di **REAG TEST EC1** a un pozzetto e 1 goccia di **REAG CONTROL** all'altro. Agitare delicatamente il cartoncino per due minuti e osservare l'agglutinazione. Il pozzetto contenente il reagente del test al lattice dovrebbe mostrare un'evidente agglutinazione, mentre il pozzetto contenente il reagente di controllo al lattice non dovrebbe mostrare alcuna agglutinazione. Se questo modello di reazione non è confermato, i reagenti possono essersi deteriorati o essere contaminati e vanno scartati.

##### Procedura del test:

1. Dispensare 1 goccia (30 µL) di **SAMPLE DILUENT** su due pozzetti di un cartoncino di reazione pulito e asciutto.



- Usando un'ansa per l'inoculo, prelevare parecchie colonie sospette di E.coli da una piastra di Sorbitol Mac Conkey Agar. Selezionare soltanto colonie incolori con morfologia simile a quella di E.coli.
- Emulsionare le colonie nelle due gocce di soluzione salina sul cartoncino di reazione fino a produrre una sospensione densa ed omogenea, stendendo la miscela su tutta la superficie dei pozzetti.
- Agitare delicatamente il cartoncino per 30 secondi e osservare l'eventuale agglutinazione o la formazione di aggregati. Se la sospensione rimangono omogenee passare al punto 5. Se la sospensione si presenta "vischiosa" o "granulare", il campione non è idoneo per essere testato con E. coli 0157 Rapid Latex Test Kit dato che potrà dare una reazione falsamente positiva all'aggiunta del lattice. In questa eventualità deve essere impiegato un metodo alternativo per il test.
- Agitare delicatamente ciascun reagente al lattice per assicurare l'omogeneità delle sospensioni.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati ottenuti con E. coli 0157 Rapid Latex Test Kit devono essere interpretati come segue:

TEST al LATTICE	CONTROLLO al LATTICE	INTERPRETAZIONE
+	-	Presenza di <i>E.coli</i> sierogruppo 0:157
-	-	Assenza di <i>E. coli</i> sierogruppo 0:157
+	+	Agglutinazioni non specifiche
-	+	Risultato inconcludente

## LIMITAZIONI D'USO

- I risultati del test devono essere interpretati clinicamente sulla base del complesso di tutte le informazioni cliniche e di laboratorio disponibili.
- Soltanto colture pure cresciute su terreni Sorbitol Mac Conkey e che mostrano una morfologia delle colonie tipica di E.coli devono essere testate.
- Prove sierologiche tradizionali, con l'impiego di antisieri *E.coli* O ed *E.coli* H dovrebbero essere impiegate per confermare il sierotipo delle colture positive all'agglutinazione al lattice.
- La maggior parte delle colonie non fermentanti il sorbitolo su piastre di Sorbitol Mac Conkey che danno una reazione positiva con E. coli 0157 Rapid Latex Test Kit sono identificabili presuntivamente come E.coli 0157:H7. Tuttavia, alcuni altri ceppi di E.coli 0157 (per esempio H16) pure non fermentanti il sorbitolo possono reagire con questo test.
- Anche se *E. coli* 0157 Rapid Latex Test Kit è stato sviluppato appositamente per ridurre la normale cross-reattività di *E.hermanii*, alcuni ceppi non comuni possono dare reazioni crociate. La fermentazione del cellobiosio in presenza di cianuro di potassio e la pigmentazione gialla (che può essere tardiva) possono essere utilizzate per la differenziazione.

	<i>E.coli</i>	<i>E.hermanii</i>
Fermentazione del cellobiosio	Neg	Pos
Crescita KCN Broth	Neg	Pos
Pigmento giallo	Neg	Pos

- Sospensioni derivate da colture che autoagglutinano non possono essere testate con E.coli 0157 Rapid Latex Test Kit. Devono essere impiegati metodi alternativi per il test.













## CARATTERISTICHE DEL METODO

Le valutazioni cliniche su E.coli 0157 Rapid Latex Test Kit sono state condotte in un laboratorio di microbiologia ospedaliero. Campioni di feci emorragiche di 474 pazienti con diagnosi di diarrea, colite emorragica o sindrome uremica-emolitica sono stati messi in coltura. 47 colture hanno generato colonie non fermentanti il sorbitolo risultate positive per *E.coli* 0157 utilizzando E.coli 0157 Rapid Latex Test Kit e un altro test al lattice disponibile in commercio. Tutte queste colonie sono state confermate poi essere di E.coli 0157 con i test di identificazione biochimica tradizionali.

Sensibilità di E.coli 0157 Rapid Latex Test Kit = 47/47 = 100%

## RIPRODUCIBILITA'

La riproducibilità da lotto a lotto è stata confermata monitorando i test di ciascun lotto su un definito pannello di campioni come parte della procedura di rilascio prevista dal Controllo di Qualità.

 IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Limiti di temperatura	 LOT	Codicedel lotto (XXX)		Fabbricante		Mantenere asciutto		Non sterile
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro (anno/mese)	 REF	Numero di catalogo		Non riutilizzare		Fragile, maneggiare con cura		Tenere lontano dal calore

## CONFEZIONE (50 tests)

REAG TEST EC1

REAG CONTROL

SAMPLE DILUENT

CARD (SLIDE)

BASTONCINI

PIPETTA

ISTRUZIONI PER L'USO

## COD. 271080

2,5 mL (Tappo rosso gocciolatore)

2,5 mL (Tappo verde gocciolatore)

5,0 mL (Tappo giallo)

20 card con 6 aree test

4 x 25 bastoncini

1

1

Codice Ramo CND W0105011501

