

E.coli Verotoxin 1 e 2 CARD

Per uso diagnostico *in Vitro*

Test rapido su card per la determinazione degli antigeni di VT1/SLT-I e VT2/SLT-II in campioni fecali

I. INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO

E.coli Verotoxin 1 e 2 CARD è un test rapido per la determinazione qualitativa di antigeni (VT1/SLT1) e (VT2/SLT2) presenti nei campioni di feci umane, come ausilio nella diagnosi di infezioni da *E.coli enterohemorragico (EHEC)*.

Anche se rappresenta un comune abitante dell'intestino e ha un ruolo fondamentale nel processo digestivo, ci sono situazioni in cui *E. coli* può provocare malattie nell'uomo e negli animali. Alcuni ceppi sono patogeni per la presenza di plasmidi di virulenza (es. geni per le tossine). Tra i patogeni intestinali di *E.coli* conosciuti, gli EHEC (*E.coli enterohemorragici*) sono attualmente i più importanti.

Gli EHEC rilasciano la tossina Shiga o Verotossina (STEC o VTEC) in grado di produrre le citotossine Verotoxin 1 e 2. Data la somiglianza con le tossine prodotte da *Shigella dysenteriae*, le VTEC sono chiamate anche STEC.

I sintomi causati da EHEC variano da una lieve diarrea a gastroenterite severa, fino a colite emorragica, che si verifica nel 10-20% dei casi di infezione. Nel 5-10% delle infezioni, specialmente in neonati e bambini piccoli, così come in pazienti anziani o compromessi, può portare anche ad una sindrome uremico emolitica o a complicazioni post-infettive pericolose per la vita.

II. PRINCIPIO DEL TEST

E.coli Verotoxin 1 e 2 CARD è un test immunocromatografico qualitativo per la determinazione di **Verotossina 1 (VT1) e Verotossina 2 (VT2)** in campioni di feci. La membrana è pre-rivestita con anticorpi monoclonali contro antigeni VT1 e VT2 nell'area test. Durante il test, il campione reagisce con le particelle coniugate con anticorpi anti-VT1 e anti-VT2 pre-essiccati sulla striscia reattiva. La miscela migra sulla membrana per azione capillare. In caso di risultato positivo gli anticorpi specifici presenti sulla membrana reagiscono con il coniugato e formano una o due bande colorate. Una banda verde deve sempre apparire nella zona del controllo come verifica che è stato aggiunto sufficiente volume, che il flusso era appropriato e come controllo interno procedurale

III. REAGENTI E MATERIALI

Ogni kit contiene:

1. **E.coli Verotoxin 1 e 2 CARD** (10 card)
2. Tampone d'estrazione (1 mL x 10 Flaconi)
3. **Controllo Positivo (1 x 0.5 mL):** N.1 vial con gocciolatore contenente componenti non-infettivi e NaN_3 come conservante

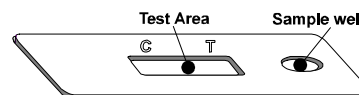
Controllo Negativo: usare Diluente-Tampone di estrazione (soluzione d'estrazione)

4. Istruzioni per l'uso (1).

Materiali necessari (non forniti)

Provette/tubo per il test, Dispositivi per la raccolta dei campioni; Guanti monouso; Cronometro.

Per l'arricchimento del campione: GN broth (Gram Negative broth) o MacConkey broth o mTSB (modified Tryptic Soy Broth).



IV. PRECAUZIONI

- Tutte le operazioni indicate devono essere eseguite rispettando le regole di laboratorio.
- Per uso diagnostico *in vitro* e per solo uso professionale.
- Evitare di toccare la striscia di nitrocellulosa con le dita.
- Indossare i guanti durante la manipolazione del campione.
- Eliminare i guanti, i tamponi, le provette e le strip utilizzate rispettando le regole di laboratorio.
- **Effettuare sempre l'arricchimento del campione. Non usare direttamente su campioni fecali. Un mancato arricchimento potrebbe produrre risultati non attendibili.**
- Non utilizzare reagenti provenienti da altri kit.
- Scartare il diluente se è microbiologicamente contaminato.
- La qualità dei reagenti non può essere garantita dopo la data di scadenza o se conservati in condizioni non adeguate.

V. STOCCAGGIO E STABILITÀ

Conservare il dispositivo sigillato sia refrigerato che a temperatura ambiente (2-30°C/36-86°F). Il kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Il dispositivo deve restare sigillato fino al momento dell'uso. Non congelare.

VI. RACCOLTA PER CAMPIONI FECALI

Raccogliere i campioni di feci in contenitori puliti ed asciutti. I campioni possono essere conservati in frigorifero (2-8°C) per 24 ore prima della coltura. Se non fosse possibile iniziare la coltura i campioni vanno congelati a -20°C. In questo caso, il campione andrà completamente scongelato e portato a temperatura ambiente prima di poter essere processato.

VII. PROCEDURA PER ARRICCHIMENTO CAMPIONI FECALI IN BRODO DI COLTURA

Dopo aver miscelato bene il campione fecale con l'aiuto di una pipetta o di un bastoncino, trasferirne 50-100 µL o un quantitativo equivalente (50 – 100 mg) di feci solide in una provetta contenente il brodo scelto per l'arricchimento. Incubare le provette non completamente chiuse a 37°C ± 2 per 18-24 ore. In caso di presenza di crescita batterica procedere nell'esecuzione del test.

VIII PROCEDIMENTO DEL TEST

Portare i reattivi e il campione a temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) prima di effettuare il test. Non aprire l'involucro prima di essere pronti per effettuare il test

1. Estrarre la card dalla busta ed usare il prima possibile.
2. Usare materiale pulito per ciascun campione.
3. Dispensare 4-5 gocce di campione arricchito (circa 150 µL) nella finestra circolare della card. Far partire il cronometro.
4. Attendere 10 minuti, quindi osservare la comparsa di bande colorate nelle finestre contrassegnate con "T" e "C".

Procedimento per controlli

Portare i reattivi a temperatura ambiente. Estrarre la card dalla busta e contrassegnarla.

Aggiungere il volume richiesto 2-3 gocce (100µL) di **Controllo Positivo/Negativo** nel pozzetto campione, leggere i risultati dopo 10 minuti.

IX. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

NEGATIVO: quando appare una sola banda nella finestra "C" (banda di controllo di colore verde). Nella finestra "T" non compare alcuna banda.

POSITIVO: VT1 positivo quando appaiono due bande, una nella finestra "C" (verde) ed una nella finestra "T1" (rossa).

VT2 positivo quando appaiono due bande, una nella finestra "C" (verde) ed una nella finestra "T2" (rossa).

VT1-VT2 positivo quando appaiono tre bande, una nella finestra "C" (verde) ed due rosse nelle finestre (T1-"T2")

NON VALIDO: quando non appare alcuna banda di controllo. Il test deve essere ripetuto.



X. CONTROLLO QUALITA' INTERNO

Viene inclusa la procedura di Controllo Qualità interno. Una linea verde compare nella regione controllo C è un controllo interno. Conferma che il volume del campione è sufficiente e la tecnica procedurale corretta.

XI. CARATTERISTICHE DEL TEST

A. Valori Attesi

Le infezioni da EHEC possono verificarsi con casi sporadici o con epidemie. L'incidenza annuale varia notevolmente in funzione dell'area geografica. In Scozia, stati Uniti, Germania, Australia, Giappone e Repubblica di Corea l'incidenza variava tra 0,08-4,1 per 100.000 abitanti per esempio.

B. Sensibilità Specificità e Accuratezza

E' stata fatta una valutazione di E.coli Verotoxin 1 e 2 CARD, correlandola con un altro immunotest commerciale (IC test: Shiga Toxin Quick Chek, TechLab®); si sono ottenute una sensibilità e una specificità > 99%.

C. Cross-reattività ed interferenze

E' stata valutata la cross-reattività di E.coli Verotoxin 1 e 2 CARD. Non c'è cross-reaizione con i comuni patogeni intestinali, occasionalmente presenti nelle feci:

- *Campylobacter*
- *Citobacter freundii*
- *Clostridium difficile*
- *Helicobacter pylori*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Listeria monocytogenes*
- *Morganella morganii*
- *Proteus mirabilis*
- *Salmonella*
- *Staphylococcus aureus*
- *Yersinia enterocolitica*

XII LIMITI DEL TEST

- Il test deve essere fatto entro due ore dall'apertura della busta contenente la card.
- Un eccesso di campione fecale potrebbe dare un risultato errato (comparsa di banda marrone o assenza di banda di controllo).
- Le feci di alcuni campioni possono diminuire l'intensità della banda di controllo.
- Evitare cicli di congelamento e scongelamento che potrebbero dare risultati errati.
- Un risultato negativo non è significativo in quanto è possibile avere campioni fecali contenenti concentrazioni troppo basse di Verotossina 1(VT1) e Verotossina 2 (VT2).
- Questo test fornisce una diagnosi presuntiva di infezione da EHEC. Una diagnosi definitiva deve essere confortata da altri parametri clinici e dal medico correlando i risultati ottenuti con altre osservazioni cliniche. Così come la presenza in campioni alimentari deve essere confermata da altri metodi validati.
- E.coli Verotoxin 1 e 2 CARD può dare risultati positivi con tossina Shiga prodotta da *Shigella dysenteriae* tipo 1, per la somiglianza della struttura della tossina. La determinazione e la differenziazione tra *Shigella dysenteriae* tipo 1 e EHEC devono essere determinate con colture selettive e altri metodi biochimici.

XIII. BIBLIOGRAFIA

- A.C. MANIA, T. WILLIAMS, C.M ANAND and G.W. HAMMOND "Detection of Verotoxina in Stool Specimens" Journal of Clinical Microbiology, 1990, P. 134-135.
- Boldtsetseg Tserenpuntsag, Hwa-Gan Chang, Perry F. Smith and Dale L. Morse Hemolytic Uremic Syndrome Risk and Escherichia coli O157:H7

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

CONFEZIONE

E.coli Verotoxin 1 e 2 CARD
Flacone con tampone d'estrazione
Controllo positivo
Istruzioni per l'uso

Cod. VC1031

10 pz
10 x 1 mL
1 x 0.5 mL
1 pezzo

Codice Ramo CND W0105011502

