

**IMPIEGO 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 incolori (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 latipizzazione 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**

- Non usare gli antisieri oltre la data di scadenza indicata sulla confezione.
- 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.
- Evitare la contaminazione del flacone di reagente.
- Il campione da testare può contenere organismi patogenici per l'uomo e pertanto deve essere manipolato e smaltito come materiale infettivo.
- Il reagente è destinato esclusivamente ad uso diagnostico *in vitro*.
- Per ottenere risultati attendibili, è necessario seguire scrupolosamente le procedure, le condizioni di conservazione, le precauzioni e le limitazioni descritte in queste istruzioni.
- 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**

- Mettere due gocce separate di salina normale (0,85% di cloruro di sodio) su un vetrino pulito.
- 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.
- Aggiungere una goccia di antisiero ad una delle gocce della sospensione batterica sul vetrino, all'altra (il controllo) aggiungere una goccia di salina normale.
- Miscelare l'antisiero con la sospensione batterica utilizzando lo stecchino. Quindi miscelare la salina (controllo) con uno stecchino nuovo.
- 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).

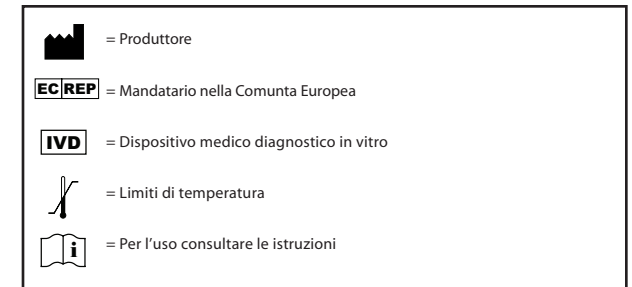
**LIMITI DEL METODO**

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

**BIBLIOGRAFIA**

- Konowalchuk J., Speirs J.I., Stavric S.** 1977. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. Infect. Immun. **18**:775-779.
- 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.
- C.D.C.** 1982. Isolation of *E. coli* 0157:H7 from sporadic cases of hemorrhagic colitis. United States MMRW **31**:580-585.
- Johnson W.M., Lior H., Bezanson G.S.** 1983. Cytotoxic *Escherichia coli* 0157:H7 associated with hemorrhagic colitis in Canada. Lancet **i**:76.
- 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.
- 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.
- 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.
- Law D.** 1988. Virulence factors of enteropathogenic *Escherichia coli*. J. Med. Microbiol. **26**:1-10.
- 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.
- 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.
- 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.
- Kauffmann, F.** 1947. J. Immunology **57**:71-100.
- Edwards, P.R. and Ewing, W.H.** 1972. Identification of Enterobacteriaceae. 3rd edition. Burgess. Minneapolis, Minnesota.
- Ewing, W.H.** 1969. Public Health Lab. **27**:19-30.
- Orskov, F.** 1956. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. **29**:373.



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: 2012 06