

O157-E.COLI-CARD

Per uso diagnostico *in Vitro*

Test immunocromatografico rapido per la determinazione di O157-E.coli nelle feci umane e campioni alimentari

I. INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO

O157-E. coli-CARD è un test rapido per la determinazione qualitativa di Escherichia coli (E. coli) antigeni presenti negli alimenti e nei campioni di feci umane, per aiutare nella diagnosi di infezioni da E. coli. O157: H7 E.coli è una delle centinaia di ceppi del batterio Escherichia coli. Sebbene la maggior parte dei ceppi sono innocui, questo ceppo produce una tossina potente che può causare malattie gravi. O157: H7 E. coli è stato trovato negli intestini di animali sani, cervi, capre e pecore. O157: H7 di E. coli è stata riconosciuta nel 1982 come causa di malattia durante un'epidemia di grave diarrea sanguinolenta; il focolaio è stato rintracciato in hamburger contaminati e verdure. Da allora, la maggior parte delle infezioni in tutto il mondo sono state causate dal mangiare carne macinata poco cotta e da qualsiasi altro cibo.

II. PRINCIPIO DEL TEST

O157-E. coli-CARD è un test immunocromatografico qualitativo per la determinazione di Escherichia coli negli alimenti e nei campioni di feci. La membrana è pre-rivestita con anticorpi monoclonali contro O157E. coli antigeni nella area test. Durante il test, il campione reagisce con le particelle coniugate con anti- O157E. coli anticorpi pre-essiccate 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 la banda colorata. La presenza della banda verde serve per verificare che è stato aggiunto sufficiente volume, il flusso era appropriato e come controllo interno per i reagenti

III. REAGENTI E MATERIALI

Ogni kit contiene:

1. O157 E. COLI CARD (25 card)
2. Tampone d'estrazione (20 mL x 1 Flacone)
3. Pipetta gocciolatore (5 pezzi)
4. Istruzioni per l'uso (1).

Materiali necessari (non forniti)

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

O157 E.coli terreni di coltura: ECBroth (Cat.551425); Bagmixer1 (Cat.Biolife Ref 7221230). Incubatori +37°C ± 1°C. e acqua deionizzata.

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 strips utilizzate rispettando le regole di laboratorio.
- 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 una sufficiente quantità di feci (1-2 g o mL per campioni liquidi). I campioni di feci devono essere raccolti in contenitori puliti ed asciutti (nessun conservante). I campioni possono essere conservati in frigorifero (2-4°C/36-40°F) per 1-2 giorni prima di essere testati. Per periodi di stoccaggio più lunghi 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 CAMPIONI FECALI

Procedimento per raccolta campioni fecali

Usare per ogni campione materiale separato (bastoncino, contagocce e tubo test o fiala). Dispensare 0,7 mL (o 14 gocce) di tampone di estrazione in un tubo da saggio. Raccogliere il campione di feci con la punta del dispositivo di raccolta, immergere in due diverse zone del campione di feci. Verificare di trasferire una piccola porzione (200-300 mg) di feci nel tubo per il test. Agitare il tubo al fine di ottenere una estrazione omogenea. Per feci liquide o semi-solide dispensare con una pipetta gocciolatore 200-300 µL di feci in un tubo test, aggiungere al tubo di estrazione 0,70 mL (o 14 gocce) di tampone estrazione. Mescolare con cura, poi vortexare per 15 secondi.

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. Prelevare parte del liquido sumatante con una pipetta.
3. Dispensare 4 gocce di campione (100 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".

VIII. RACCOLTA PER CAMPIONI ALIMENTARI

I campioni alimentari andrebbero raccolti in contenitori puliti e il dosaggio dovrebbe essere fatto subito dopo la raccolta. I campioni possono essere conservati in frigorifero (2-4°C/36-40°F) per 1-2 giorni prima di essere testati. Per periodi di stoccaggio più lunghi 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, assicurandosi che la sola quantità occorrente venga scongelata perché congelamenti e scongelamenti sono sconsigliati. I campioni omogenati devono essere processati subito.

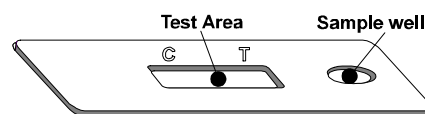
Arricchimento del Campione:

Miscelare 25 g di campione solido o 25 mL di campione liquido con 225 mL di terreno di coltura ECBroth e omogenare per circa 2 minuti in Bagmixer 1.

- Incubare per 18-24 h a 37°C ± 1°C.

IX. PROCEDURA PER CAMPIONI ALIMENTARI

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



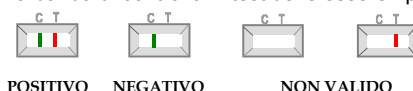
1. Mettere 1.0-2.0 mL (circa 30-40 gocce) di coltura arricchita in un tubo da test e coprirlo. Portare a temperatura ambiente solamente il numero di test richiesti per test prima di aprirlo.
2. Rimuovere *E. coli* O157 card dalla busta sigillata appena prima dell'uso ed identificare.
3. Usare per ogni campione una card e una pipetta dedicata. Dispensare 6 gocce o 150 µL nella finestra circolare della card, evitare di aggiungere del solido con il liquido.
4. Leggere il risultato al 5 minuto (comparsa bande colorate).

X. 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: quando appaiono due bande, una nella finestra "C" (verde) ed una nella finestra "T" (rossa). Il campione contiene **O157 E. COLI**.

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



XI. 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.

XII. CARATTERISTICHE DEL TEST

A. Valori Attesi

O157: H7 *Escherichia coli* è una delle principali cause di malattie di origine alimentare. Sulla base di una stima del 1999, 73.000 casi di infezione e 61 decessi si verificano ogni anno negli Stati Uniti.

Risultati negativi sono attesi in non-O157 di *E. coli* contaminati cibi e nel cibo ben cotto se è stata raggiunta una temperatura minima interna di 160 ° F (70 ° C).

B. Sensibilità Specificità e Accuratezza

E' stata fatta una valutazione di O157 E. COLI CARD, ha una sensibilità >99% e una specificità di 85%.

PPV mostrata è del 70% e NPV del 100%.

L'Accuratezza

La determinazione di *E. coli* O157 ha mostrato un 94% di concordanza in esattezza

C. Cross-reattività ed interferenze

E' stata valutata la cross-reattività di *E. coli* O157 CARD. Non c'è cross-reazione con i comuni patogeni intestinali, altri organismi e patogeni occasionalmente presenti nelle feci: *H. pylori*, *Campylobacter spp.*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*.

XIII. LIMITI DEL TEST

1. Il test deve essere fatto entro due ore dall'apertura della busta contenente le card.
2. Un eccesso di campione fecale potrebbe dare un risultato errato (comparsa di banda marrone o assenza di banda di controllo).
3. Feci di alcuni campioni fecali, possono diminuire l'intensità della banda di controllo.
4. Evitare cicli di congelamento e scongelamento che potrebbero dare risultati errati.
5. Un risultato negativo non è significativo in quanto è possibile avere campioni fecali contenenti concentrazioni troppo basse di *O157 E. coli*. La determinazione della *O157 E. coli* dovrebbe essere fatta in campioni arricchiti.
6. Questo test da una diagnosi presuntiva di infezione da *E. coli* o la presenza/assenza di *E. coli* in campioni alimentari. 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.

XIV. BIBLIOGRAFIA

1. Rangel, J. M., Sparling, P. H., Crowe, C., Griffin, P. M. & Swerdlow, D. L. 2005 Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982–2002. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 603–609.
2. Griffin, P.M. "The Epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated haemolytic uremic syndrome". *Epidemiol. Rev.*, 1991, 13:60-98.
3. Grant, Michael A. "Improved Laboratory Enrichment for Enterohemorrhagic *Escherichia coli* by exposure to Extremely Acidic

	Dispositivo medico-diagnostico in vitro		Limiti di temperatura		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

O157 E. COLI CARD
Flacone con tampone d'estrazione
Pipetta gocciolatore
Istruzioni per l'uso

Cod. VC1010

25 CARD
1 x 20 mL
5 pezzi
1 pezzo

Codice Ramo CND W0105011501

