

IMPIEGO PREVISTO

Gli antisieri polivalenti per *Shigella* sono preparazioni da usare per l'identificazione sierologica di organismi appartenenti al genere *Shigella*, l'utilizzo è riservato a personale adeguatamente qualificato.

RIEPILOGO E SPIEGAZIONE

Gli organismi del genere *Shigella* sono bastoncini Gram-negativi, aerobici, non motili e non sporulanti. La maggior parte delle specie sono patogeni per l'uomo e causano dissenteria o gastroenterite acuta. Fermentano il glucosio senza produrre gas, ma non fermentano il lattosio. (*S. sonnei* può fermentare il lattosio, senza produzione di gas, dopo una lunga incubazione). Per l'identificazione completa della *Shigella* è necessario isolare la coltura, eseguire una caratterizzazione biochimica ed un'identificazione sierologica (sierotipizzazione).

Gli antisieri polivalenti per *Shigella* PRO-LAB sono concepiti per facilitare il gruppaggio sierologico iniziale. Il principio dell'identificazione sierologica di *Shigella* prevede la miscelazione della colonia sospetta con antisieri contenenti anticorpi *Shigella* specifici. In presenza di un antisiero omologo i batteri agglutinano (aggregazione). Gli antisieri sono preparati nei conigli con l'impiego di ceppi di riferimento in base a linee guida riconosciute e assorbite per eliminare la cross-reattività. Gli antisieri per *Shigella* PRO-LAB sono forniti in flaconi con contagocce contenenti 2.0 ml di antisieri pronti all'uso.

PRECAUZIONI

1. Non usare gli antisieri oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto.
2. Gli antisieri contengono sodio azide come conservante. È opportuno seguire appropriate misure di sicurezza nel maneggiare, processare ed eliminare il reagente.
3. Evitare la contaminazione del flacone di reagente.
4. I campioni da testare possono contenere organismi patogeni per l'uomo e pertanto devono essere manipolati e smaltiti come materiale infettivo.
5. I reagenti sono previsti esclusivamente per un uso diagnostico *in vitro*.
6. Utilizzare i reagenti in modo conforme alla Buona Pratica di Laboratorio e agli standard di Igiene occupazionale. Per ottenere risultati attendibili, è necessario seguire scrupolosamente le procedure, le condizioni di conservazione, le precauzioni e le limitazioni descritte in queste istruzioni.
7. Durante la manipolazione dei campioni e l'esecuzione del test non pipettare il reagente con la bocca, indossare guanti usa e getta e osservare tutte le normali misure di sicurezza previste in laboratorio.
8. Il prodotto contiene materiale di origine animale e deve essere manipolato come potenziale portatore e trasmettitore di malattie.

RACCOLTA DEI CAMPIONI E PREPARAZIONE DELLE COLTURE

Per le procedure specifiche di raccolta e preparazione delle colture primarie, fare riferimento ad un manuale di normali tecniche microbiologiche. Le colonie isolate su terreno enterico differenziale e con sospetto di *Shigella* devono essere confermate con i test biochimici tradizionali.

	<i>Sh. dysenteriae</i> <i>shigae schmitzii</i>	<i>Sh. boydii</i> <i>Sh. flexneri</i>	<i>Sh. sonnei</i>
Lattosio	-	-	A*
Glucosio	A	A	A
Mannitolo	-	-	A
Saccarosio	-	-	A*
Dulcitolio	-	-	-
Adonitolo	-	-	-
Urea	-	-	-
Salicina	-	-	-
Citrato	-	-	-
VP	-	-	-
Indolo	-	+	(+)
Gluconato	-	-	-
Malonato	-	-	-
Fenilalanina	-	-	-
Gelatina	NL	NL	NL
Idrogeno solforato	-	-	-
Riduzione dell'ossido di trimetilamina	-	-	-

A=acido. () = reazione variabile. * = dopo un'incubazione prolungata.
NL = non liquefatto. ~ = esistono varianti aerogene di *Sh. flexneri* 6.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

Gli antisieri per *Shigella* dovrebbero essere conservati a 2-8°C. Non congelare. Se conservati nelle condizioni appena descritte, gli antisieri possono essere utilizzati fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del prodotto. Durante la conservazione, alcuni antisieri possono diventare leggermente torbidi; ciò non indica necessariamente la presenza di deterioramento e gli antisieri possono essere chiarificati mediante centrifugazione o filtrazione prima dell'uso. Un'evidente torbidità è indice di contaminazione e gli antisieri in questione devono essere gettati.

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

Vetrini. Salina normale (soluzione di cloruro di sodio allo 0.85%). Anse usa e getta in filo.

PROCEDURA CONSIGLIATA

1. Mettere due gocce separate di salina su un vetrino pulito.
2. Usando un'ansa sterile, emulsionare la stessa colonia della coltura sospetta con entrambe le gocce di salina per ottenere una sospensione omogenea.
3. Aggiungere a una delle sospensioni, come controllo per l'autoagglutinazione, una goccia o un'ansa piena di salina e miscelare.
4. Aggiungere all'altra sospensione una goccia o un'ansa piena di antisiero non diluito e miscelare.
5. Scuotere delicatamente il vetrino in avanti e all'indietro per un minuto ed osservare l'agglutinazione in condizioni di luce normali. L'uso di un obiettivo a bassa potenza consente di ottimizzare la lettura dei risultati dell'agglutinazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Un'agglutinazione evidente (aggregato granulare) entro 60 secondi, senza alcuna agglutinazione nella soluzione salina di controllo (autoagglutinazione) è considerata un risultato positivo.

LIMITAZIONI

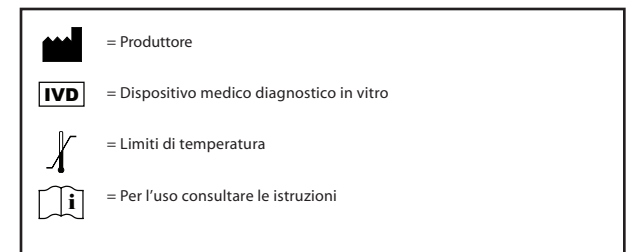
1. I test sierologici, da soli, forniscono solamente un'identificazione presuntiva e la normale prassi di laboratorio richiede l'esecuzione di test biochimici di conferma. Gli antisieri polivalenti per *Shigella* devono essere utilizzati esclusivamente per l'identificazione di colture precedentemente caratterizzate come *Shigella* con test biochimici. La presenza d'antigeni simili sulla superficie di batteri diversi da *Shigella* può dare luogo a falsi positivi.
2. Alcune specie di *Shigella* non agglutinano a causa della presenza di antigeni K (capsulari). Questi antigeni capsulari possono essere rimossi mediante riscaldamento a 100°C per 2 ore; a questo punto è possibile eseguire test sierologici su vetrino.
3. Si consiglia di controllare la sensibilità degli antisieri per *Shigella* con colture stock di riferimento delle quali si conosca provenienza e struttura antigenica.
4. Ogni test dovrebbe includere un controllo per l'autoagglutinazione con salina normale per garantire la specificità della reazione.

PRODOTTI DISPONIBILI

PL.6900 - *Sh. sonnei* fase 1&2
PL.6901 - *Sh. flexneri* 1-6, X&Y
PL.6902 - *Sh. dysenteriae* 1-10
PL.6903 - *Sh. boydii* 1-15

BIBLIOGRAFIA

1. Ewing, W.H. Edwards & Ewing's Identification of Enterobacteriaceae. 4th edition.
2. Carpenter K.P. (1968) Association of Clinical Pathologists Broadsheet 60.



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.