

USO PROPUESTO

PRO-LAB *E. coli* O157 KIT REACTIVO PARA LA PRUEBA DEL LÁTEX es un kit para prueba de aglutinación para la identificación de presunción del antígeno del serogrupo O157 de *E. coli* en medios de cultivo de laboratorio.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El serotipo O157:H7 de *Escherichia coli* es un patógeno productor de verotoxinas (productor de VT).^{1,2} Se ha comunicado este serotipo como un agente etiológico en casos esporádicos y brotes de colitis hemorrágica.^{3,4,5} También se asocia a síndrome hemolítico urémico.⁶ Determinados serotipos de *E. coli* distintos de O157:H7 producen también verotoxina.^{7,8,9} Sin embargo, la diarrea producida por estos otros serotipos no suele ser sanguinolenta. Además, el serotipo O157:H7 de *E. coli* no fermenta el sorbitol, mientras que la mayoría de los otros serotipos fermentan el sorbitol.^{10,11} Por tanto, si se usa el medio de agar Sorbitol-MacConkey como cribado primario, las colonias del serotipo O157:H7 de *E. coli* aparecen incoloras (colonias no fermentadoras de sorbitol - CNFS) mientras que las colonias de otros serotipos aparecen característicamente de color rosa (colonias fermentadoras de sorbitol -CFS).¹¹

PRINCIPIO DEL TEST

Las partículas de látex están revestidas con un antisuero contra el antígeno de *E. coli* O157. Cuando se mezclan las partículas de látex revestidas con colonias frescas de *E. coli* serotipo O157, las bacterias se unirán al antisuero, haciendo que las partículas de látex se aglutinen visiblemente (reacción positiva). Las bacterias que no son del serotipo O157 no se unirán al antisuero y no producirán aglutinación (reacción negativa).

REACTIVOS Y MATERIALES DISPONIBLES

Los Kits PRO-LAB *E. coli* O157 de reactivos de prueba de látex, contienen:

- a) un vial gotero de látex con Reactivo de Látex *E. coli* O157 partículas recubiertas con IgG de conejo purificada que reacciona con el serotipo O157 de *E. coli*. Suficientes para:
 - PL.072B 50 tests 3,1 ml (PL.070B)
 - PL.073B 100 tests 6,2 ml (PL.071B)
- b) un vial gotero de Suspensión de Control Positivo con antígeno de *E. coli* serotipo O157:H7. Las colonias de *E. coli* serotipo O157:H7 se cultivan en medio agar, se recolectan y se inactivan para producir el control positivo. Suficiente para:
 - PL.074B 50 tests 1,5 ml (PL.070B)
 - PL.075B 100 tests 3,0 ml (PL.071B)
- c) un vial gotero de Látex de control negativo con partículas de látex con IgG de conejo purificado que no reacciona con *E. coli* serotipo O157. Suficiente para:
 - PL.077B 50 tests 1,5 ml (PL.070B)
 - PL.076B 100 tests 3,0 ml (PL.071B)
- d) tarjetas de test
- e) palos para mezclar

PARA USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO

CONSERVACIÓN

Los reactivos deben conservarse a 2° a 8°C. NO CONGELAR. Los reactivos conservados en estas condiciones serán estables hasta la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta del producto.

EQUIPO Y REACTIVOS NO SUMINISTRADOS

- 1. Solución salina normal.
- 2. Tubos de cultivo.
- 3. Asas estériles o torundas de cultivo.
- 4. Pipetas de pasteur estériles.

RECOGIDA DE MUESTRAS

Las muestras clínicas deben cultivarse en medio Sorbitol-MacConkey. Las colonias no fermentadoras de sorbitol (CNFS) pueden subcultivarse en medio de agar no selectivo. Las colonias que han crecido por la noche deben retirarse limpiamente de la superficie de agar para estudiarse usando un asa estéril o una torunda de cultivo estéril. Los cultivos jóvenes, de crecimiento rápido, producirán reacciones típicas del test.

PRECAUCIONES

- 1. Los reactivos PRO-LAB están previstos para uso diagnóstico in vitro exclusivamente.
- 2. No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad mostrada en el producto.
- 3. Los reactivos contienen azida sódica al 0,098%. La azida sódica puede reaccionar explosivamente con el cobre y el plomo, si se permite que se acumule. Aunque la cantidad de azida sódica en los reactivos es mínima, debe utilizarse una gran cantidad de agua cuando se eliminen los restos de reactivos por el desagüe.
- 4. Las muestras deben considerarse potencialmente infecciosas y deben seguirse precauciones adecuadas para los riesgos microbiológicos.
- 5. No utilizar el Reactivo de Látex si presenta autoaglutinación visible. Se define la autoaglutinación como una aglutinación de Reactivo de Látex de *E. coli* O157 en ausencia de la muestra de prueba añadida o aglutinación del Reactivo de Látex de Control Negativo en presencia de Antígeno de Control positivo o muestra de prueba. La autoaglutinación puede indicar que se ha producido contaminación o deterioro del reactivo.
- 6. Para obtener resultados válidos deben seguirse los procedimientos, condiciones de conservación, precauciones y limitaciones especificadas en estas instrucciones de uso.
- 7. Algunos reactivos contienen materiales de origen animal y deben ser manejados como portadores y transmisores potenciales de enfermedad.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

Deje que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos.

El Reactivo de Látex *E. coli* O157 y el Reactivo de Látex Control Negativo deben estudiarse con el Antígeno de Control positivo antes de estudiar muestras de prueba. El Reactivo de Látex *E. coli* O157 debe mostrar aglutinación positiva y el Reactivo de Látex de Control Negativo no debe mostrar aglutinación en dos minutos. Esto indica que los reactivos conservan su actividad.

- 1. Puede obtenerse material de prueba cultivando muestras clínicas y usando:
 - a) Colonias no fermentadoras de sorbitol (CNFS) de medio de agar Sorbitol MacConkey.
 - b) Subcultivo de CNFS de medio de agar no selectivo.
- 2. Seleccione colonias adecuadas de la superficie del medio de agar.
- 3. Resuspenda las colonias en 0,2 ml de solución salina normal en un tubo de cultivo (12 x 75 mm o equivalente) a una turbidez correspondiente a un McFarland 3-5.
- 4. Coloque una gota de Reactivo Látex *E. coli* O157 en un círculo de prueba en una de las fichas de prueba suministradas. Usando una pipeta de pasteur estéril, añada una gota de la muestra de prueba (suspensión de colonia) al círculo de prueba y luego mezcle con el Reactivo de Látex usando uno de los palos de mezcla suministrados.

NO DEJE QUE LA MUESTRA DEL TEST ENTRE EN CONTACTO CON LOS FRASCOS DE REACTIVO.

- 5. Mueva la tarjeta suavemente y examine en cuanto a aglutinación durante un período de dos minutos.
- 6. Las muestras que tiene aglutinación positiva en dos minutos deben examinarse más. Estudie de nuevo las muestras positivas repitiendo el procedimiento usando el Reactivo de Látex Control Negativo.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1. Para que los resultados de la prueba se consideren válidos, el reactivo de Látex *E. coli* O157 debe mostrar una aglutinación positiva y el Reactivo de Látex Control Negativo no debe mostrar aglutinación en dos minutos cuando se estudia con el Antígeno Control Positivo.

La aglutinación de reactivos de látex con el antígeno de control positivo se interpreta como se muestra a continuación:

<u>O157 LATEX REACTIVO</u>	<u>CONTROL NEGATIVO DE LÁTEX</u>	<u>NOTAS</u>
+	-	El rendimiento del reactivo es satisfactorio.
-	-	Potencia demasiado baja. Deseche los reactivos.
+	+	Autoaglutinación. Deseche los reactivos

- 2. La aglutinación de reactivos de látex con muestra de prueba se

interpreta como se muestra a continuación:

0157 LÁTEX REACTIVO	CONTROL NEGATIVO REACTIVO DE LÁTEX	NOTAS
+	-	De presunción para presencia de <i>E. coli</i> serotipo O157.
+	+	Indica ausencia de <i>E. coli</i> serotipo O157. Cepa autoaglutinante o con reacción cruzada pre-sente.
-	no realizada	Indica ausencia de <i>E. coli</i> serotipo O157.
en cuerdas o mucoide	no se realiza	Ininterpretable. aspecto Haga una nueva suspensión de colonias en solución salina y permitir que los se grumos desahagan. Reestudiar el sobrenadante.

LIMITACIONES

- Sólo deben estudiarse cultivos puros de medios de Sorbitol-MacConkey y que muestran una morfología de colonias típica de *E. coli*.
- Los tests deben ser interpretados por una persona experimentada en microbiología, la identificación de la morfología de colonias bacterianas y examen de aglutinación con látex.
- Los resultados positivos de la prueba deben confirmarse bioquímicamente. Deben usarse pruebas serológicas convencionales usando anti sueros de *E. coli* O *E. coli* H, para confirmar el serotipo de un cultivo positivo de aglutinación en látex.
- Los reactivos PRO-LAB fueron desarrollados para detectar la presencia del antígeno del *E. coli* serogrupo O157. La mayoría de las colonias no fermentadoras de sorbitol (CNFS en medio Sorbitol-MacConkey¹¹) que dan un resultado positivo en esta prueba se identifican en cuanto a su función como *E. coli* O157:H7. Algunas otras cepas *E. coli* O157 (p.ej. H16) que no son fermentadoras de sorbitol pueden producir también una reacción positiva en esta prueba.^{1,12,13}
- Aunque esta prueba se ha diseñado específicamente para reducir la reactividad cruzada normal de *Escherichia hermannii* (12), cepas poco frecuentes pueden reaccionar de forma cruzada. Puede usarse el crecimiento de celibiosa en presencia de KCN y pigmentación amarilla (puede diferirse) para la diferenciación.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

El rendimiento clínico de la prueba de PRO-LAB fue evaluado en el laboratorio de microbiología de un hospital. Se cultivaron las muestras de heces teñidas con sangre de 474 pacientes diagnosticados de diarrea, colitis hemorrágica o síndrome hemolítico urémico.







De estas 474 muestras, 47 produjeron colonias negativas para sorbitol y resultaron positivas para la cepa O157 de *E. coli* mediante una prueba de látex disponible comercialmente. Estos resultados se confirmaron mediante pruebas bioquímicas convencionales.

Las 47 muestras confirmadas fueron un resultado positivo cuando se estu-

diaron usando el Kit de Reactivo de Látex PRO-LAB *E. coli* O157 (47/47 = sensibilidad del 100%)

REFERENCIAS

- 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 O157:H7. J. Clin. Microbiol. 6:26:2006-2012.
- C.D.C. 1982. Isolation of *E. coli* O157: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* O157:H7 associated with haemorrhagic 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* O157:H7. J. Clin. Microbiol. 6: 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* O157: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* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J. Clin. Microbiol. 23:869-872.
- Borczyk A., Lior H., Cebin B. 1987. False positive identification of *Escherichia coli* in foods. Int. J. Food Microbiol. 4:347-349.
- Thompson J.S., Hodge D.S., Borczyk A.A. 1990. Rapid biochemical test to identify verocytotoxin-positive strains of *Escherichia coli* serotype O157. J. Clin. Microbiol. 6: 28:2165-2168.

	= Fabricante
	= Representante Autorizado en la Comunidad Europea
	= Contiene suficiente para (n) test
	= Dispositivo para diagnóstico médico In vitro
	= Limite de temperatura
	= Consultar las instrucciones de uso

Las instrucciones de uso se tradujeron de manera profesional del inglés. En caso de ambigüedad o discrepancia evidente, por favor, diríjase al servicio de atención al cliente de Pro-Lab.