

KIT DE REACTIVOS DE LA PRUEBA DE LÁTEX PROLEX™ *E. coli* O157



pro-lab.com/resources

PL.070B



50

PL.071B



100

REF PL.070B

REF PL.071B

REF PL.076B

INSTRUCCIONES DE USO

USO PREVISTO

El kit de reactivos de prueba de latex Prolex™ *E. coli* O157 es un kit de prueba de aglutinación para la identificación presuntiva del *Escherichia coli* de serogrupo O157.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Escherichia coli serotipo O157:H7 es un patógeno productor de la toxina Shiga.^{1,2} Este serotipo se ha asociado como agente etiológico en casos esporádicos y brotes de colitis hemorrágica.^{3,4,5} Se asocia también al síndrome hemolítico urémico.⁶ Determinados serotipos de *E. coli* distintos de O157:H7 también producen toxina Shiga.^{7,8,9} Sin embargo, la diarrea causada por estos otros serotipos habitualmente no es sanguinolenta. Además, *E. coli* de serotipo O157:H7 no fermenta el sorbitol mientras que la mayoría de los demás serotipos sí lo hacen.^{10,11} Por tanto, si se usa Agar MacConkey con Sorbitol como cribado principal, las colonias de *E. coli* de serotipo O157:H7 aparecen incolores (colonias no fermentadoras de sorbitol [CNFS]) mientras que las colonias de los otros serotipos aparecen de color característico rosa (colonias fermentadoras de sorbitol [CFS]).¹¹

PRINCIPIO DEL TEST

Las partículas de látex de poliestireno azul empleadas en el kit están revestidas por un anticuerpo frente al antígeno somático de *E. coli* O157. Cuando se mezclan estas partículas de látex con colonias frescas de *E. coli* serogrupo O157, las bacterias se unirán al anticuerpo, haciendo que las partículas de látex se aglutinen (reacción positiva). Las bacterias que no son *E. coli* O157 no se unirán al anticuerpo y no se aglutinarán (reacción negativa).

MATERIALES SUMINISTRADOS

El kit PL.070B es suficiente para realizar 50 tests. El PL.071B es suficiente para realizar 100 tests. Los materiales se suministran listos para su uso.

- Reactivo de látex Prolex™ *E. coli* O157 (PL.072B / PL.073B): Un frasco con gotero, con 3,1 ml (PL.070B) o 6,2 ml (PL.071B) de partículas de látex revestidas con IgG de conejo purificada que reacciona con *E. coli* serogrupo O157. Las partículas de látex están suspendidas en tampón con azida sódica al 0,098% como conservante. Control positivo Prolex™ *E. coli* O157 (PL.074B / PL.075B):
- Un frasco con gotero con 1,5 ml (PL.070B) o 3,0 ml (PL.071B) de suspensión de Control Positivo con *E. coli* serotipo O157:antígeno H7 producida y cultivada en agar e inactivando colonias de *E. coli* serotipo O157:H7. El antígeno está suspendido en tampón con azida sódica al 0,095% como conservante. Reactivo de látex de control negativo Prolex™ *E. coli* O157 (PL.077B / PL.076B):
- Un frasco con gotero, con 1,5 ml (PL.070B) o 3,0 ml (PL.071B) de partículas de látex revestidas con IgG de conejo purificada que no reacciona con *E. coli* serogrupo O157. Las partículas de látex están suspendidas en tampón con azida sódica al 0,098% como conservante.
- Tarjetas de test
- Palillos de mezcla

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Solución salina normal (0,85 % de cloruro de sodio) o solución salina tamponada con fosfato (PBS)
- Estándares de McFarland 3.0, 4.0 y 5.0
- Tubos de ensayo de 12x75 mm
- Asa o aguja de inoculación
- Pipetas de Pasteur

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

Los reactivos deben conservarse a 2°C a 8°C. Los reactivos conservados en estas condiciones permanecerán estables hasta la fecha de caducidad que se muestra en la etiqueta del producto. **No congelar.**

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso exclusivo en diagnóstico in vitro.
2. No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta del producto.
3. Los reactivos contienen azida sódica a $\leq 0,098\%$. La azida sódica puede reaccionar explosivamente con las tuberías de cobre o 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 si se eliminan los restos de reactivos por el desagüe.
4. Deben tomarse precauciones universales al manipular, procesar y desechar todas las muestras clínicas. Todos los materiales del test deben considerarse potencialmente infecciosos durante y después de su uso, y deben manipularse y desecharse de forma adecuada..
5. No utilizar los reactivos de látex si presenta autoaglutinación visible. Esto aparecería como aglutinación de Reactivo de Látex Prolex™ *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.
6. Para obtener resultados válidos deben seguirse los procedimientos, condiciones de conservación, precauciones y limitaciones especificadas en estas instrucciones de uso.
7. Los reactivos contienen materiales de origen animal y deben manejarse como potenciales portadores y transmisores de enfermedades.

PREPARACIÓN DE CULTIVOS

Las muestras clínicas deben cultivarse en Agar MacConkey con Sorbitol. Las colonias no fermentadoras de sorbitol (CNFS) pueden estudiarse directamente o a partir de un subcultivo en un medio de agar no selectivo. Las colonias de un cultivo durante la noche (18-24 h) deben retirarse limpiamente de la superficie de agar para estudiarse usando un asa o una aguja estéril. Los cultivos jóvenes, de crecimiento rápido, típicamente dan los mejores resultados.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

1. Deje que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos.
2. Vuelva a suspender el reactivo de látex invirtiendo suavemente el frasco cuentagotas varias veces. Examine los frascos cuentagotas para asegurarse de que las partículas de látex estén correctamente suspendidas antes de su uso. No lo utilice si el látex no se vuelve a suspender.
3. Con una pipeta, transfiera 0,2 ml de solución salina normal o solución salina tamponada con fosfato a un tubo de ensayo de 12 x 75 mm..
4. Seleccione suficientes colonias de la placa con un asa o aguja estéril y prepare una suspensión en solución salina normal o solución tamponada con fosfato para alcanzar una turbidez correspondiente a un estándar McFarland de 3-5..
5. Ponga una gota del reactivo de latex Prolex™ *E. coli* O157 en un círculo de test en una de las tarjetas de test facilitadas. Utilizando una pipeta de Pasteur, añada una gota de la suspensión de test en el mismo círculo de test y mezcle usando uno de los palillos de mezcla suministrados.
6. Mueva la tarjeta suavemente y examine si hay aglutinación durante hasta dos minutos.
7. Los aislados que den un resultado positivo con el reactivo de látex Prolex™ *E. coli* O157 deben estudiarse en más detalle repitiendo el procedimiento usando el reactivo de látex de control negativo Prolex™.

CONTROL DE CALIDAD

El Reactivo de Látex Prolex™ *E. coli* O157 y el Reactivo de Látex de Control Negativo Prolex™ deben estudiarse con el Control Positivo Prolex™ antes de realizar las pruebas en las muestras. Debe haber aglutinación con el Reactivo de Látex Prolex™ *E. coli* O157 en dos minutos y ninguna aglutinación con el Reactivo Látex Control Negativo Prolex™.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El kit de reactivos para pruebas de látex Prolex™ *E. coli* O157 con la muestra de prueba se interpreta como se muestra a continuación:

<i>E. coli</i> O157 Reactivo de látex	Control negativo Reactivo de látex	Interpretación
+	-	Presuntivo para <i>E. coli</i> O157
+	+	Resultado inconcluso
-	no realizado	Indica ausencia de <i>E. coli</i> O157
Apariencia filamentososa o mucosa	no realizado	No interpretable

Resultado positivo: aglutinación visible de las partículas de látex azules en 2 minutos.

Resultado negativo: No se observa aglutinación de las partículas de látex en 2 minutos.

Inconcluso: La aglutinación visible de las partículas de látex con el reactivo de látex *E. coli* O157 y el reactivo de látex de control negativo indica la presencia de una cepa aglutinante o con reacción cruzada. Realice más pruebas para descartar la presencia de *E. coli* O157.

No interpretable: Aspecto viscoso o mucoso con el reactivo de látex *E. coli* O157. Prepare una suspensión nueva de colonias en solución salina normal o solución salina tamponada con fosfato y deje que los grumos se sedimenten. Vuelva a analizar el sobrenadante.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Estudie solo colonias que muestren la morfología colonial típica en Agar MacConkey con Sorbitol (no fermentadoras de sorbitol).
2. Los resultados positivos de las pruebas deben confirmarse usando pruebas bioquímicas rutinarias.
3. Este reactivo se ha desarrollado para detectar la presencia de antígeno de *E. coli* serogrupo O157. Algunas otras cepas *E. coli* O157 (p. ej., O157:H16) que no son fermentadoras de sorbitol producen también un resultado positivo con esta prueba. 1,12,13
4. Aunque esta prueba se ha diseñado específicamente para reducir la reactividad cruzada normal de *Escherichia hermannii* (12), cepas raras pueden reaccionar de forma cruzada.

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES












El rendimiento clínico del kit de prueba Prolex™ *E. coli* O157 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 cepas aisladas dieron un resultado positivo cuando se analizaron con el kit de reactivos de látex Prolex™ *E. coli* O157 (47/47 = 100 % de sensibilidad).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Konowalchuk J., Speirs J.I., Stavric S. 1977. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. Infect. Immun. 18:775- 779.
2. Ratnam S., March S.B., Ahmed R., Bezanson G.S., Kasatiya S. 1988. Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7. J. Clin. Microbiol. 26:2006-2012.
3. C.D.C. 1982. Isolation of *E. coli* O157:H7 from sporadic cases of hemorrhagic colitis. United States MMRW 31:580- 585.
4. Johnson W.M., Lior H., Bezanson G.S. 1983. Cytotoxic *Escherichia coli* O157:H7 associated with haemorrhagic colitis in Canada. Lancet i:76.
5. 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. 25:1043-1047.
6. 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.
7. 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.

8. Law D. 1988. Virulence factors of enteropathogenic *Escherichia coli*. J. Med. Microbiol. 26:1-10.
9. Scotland S.M., Day N.P., Rowe B. 1980. Production of a cytotoxin affecting vero cells by strains of *Escherichia coli* belonging to traditional enteropathogenic serogroups. FEMS Microbiol. Lett. 7:15-17.
10. 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.
11. 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.
12. Borczyk A., Lior H., Cebin B. 1987. False positive identification of *Escherichia coli* in foods. Int. J. Food Microbiol. 4:347-349.
13. 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. 28:2165-2168.

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
	Fabricante
	Fecha de caducidad
	Número de lote
	Número de catálogo
	Límite de temperatura
	Consulte las instrucciones de uso o consulte las instrucciones de uso electrónicas
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	Contiene suficiente cantidad para <n> pruebas
	Indica conformidad europea
	Indica conformidad con el Reino Unido
	Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea

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

Pro-Lab Diagnostics U.K.

3 Bassendale Road, Bromborough,
Wirral, Merseyside CH62 3QL
United Kingdom
Tel.: 0151 353 1613
www.pro-lab.co.uk
E-mail: uksupport@pro-lab.co.uk




Pro-Lab Diagnostics Canada

20 Mural Street, Unit #4
Richmond Hill, Ontario L4B 1K3
Canada
Tel.: 905-731-0300
www.pro-lab.com
E-mail: support@pro-lab.com

Pro-Lab Diagnostics U.S.A.

1301 Blue Ridge Drive, Suite #101
Georgetown, Texas 78626-3269
United States
Tel.: 512-832-9145
www.pro-lab-direct.com
E-mail: support@pro-lab.us

 Advena Ltd. Tower Business Centre, 2nd Floor, Tower Street, Swatar, BKR 4013 Malta