

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 incoloras (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

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
- Instrucciones de uso

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Solución salina normal
- 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.**

PRECAUCIONES

1. Este kit está destinado para un 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. Las muestras y reactivos deben considerarse potencialmente infecciosos y deben observarse precauciones universales al realizar el test.
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. Algunos 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.

PROTOCOLO DEL TEST

1. Deje que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos.
2. Utilizando una pipeta, transfiera 0,2 ml de solución salina normal a un tubo de ensayo de 12 x 75 mm.
3. Utilizando un asa o aguja estéril, recoja colonias suficientes de la placa y suspéndalas en la solución salina para alcanzar la turbidez correspondiente a un patrón McFarland 3-5.
4. 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.
5. Mueva la tarjeta suavemente y examine si hay aglutinación durante hasta dos minutos.
6. Los aislados que den un resultado positivo con el látex de test deben estudiarse en más detalle repitiendo el procedimiento usando el reactivo de látex de control negativo Prolex™.

PROCEDIMIENTOS DE 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

1. La tabla siguiente muestra cómo deben interpretarse los resultados obtenidos con los Reactivos de Látex Prolex™ E. coli O157 y el Control Positivo Prolex™ E. coli O157:

REACTIVO LÁTEX O157	REACTIVO DE LÁTEX CONTROL NEGATIVO	NOTAS
+	-	El rendimiento del kit es satisfactorio.
-	-	La potencia es 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:

REACTIVO DE LÁTEX O157	REACTIVO DE LÁTEX CONTROL NEGATIVO	NOTAS
+	-	De presunción para <i>E. coli</i> serogrupo O157.
+	+	Autoaglutinación o cepa con reacción cruzada presente. Realizar más pruebas para descartar <i>E. coli</i> O157.
-	no se realiza	Indica ausencia de <i>E. coli</i> serogrupo O157.
Aspecto fibroso o mucoso	no se realiza	No interpretable. Haga una nueva suspensión de colonias en solución salina y deje que los grumos se asienten. Repita la prueba en el sobrenadante.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Estudie sólo 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.

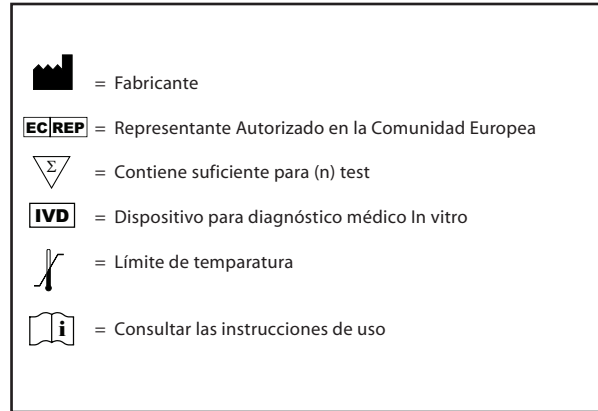
CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

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 muestras dieron un resultado positivo cuando se estudiaron usando el Kit de Reactivo de Látex Prolex™ *E. coli* O157 (47/47 = sensibilidad del 100%)

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.



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