

USO INDICADO

La prueba rápida para la detección de E. coli O157 (heces) es un inmunoensayo para la detección directa, cualitativa de antígenos de shiga toxigenica de E. coli O157 en materia fecal humana. Esta prueba es útil para el diagnostico de infección por E. coli. O157. Resultados negativos no descartan la posible infección por E. coli O157 y deben ser confirmados por cultivos o ensayos moleculares. La prueba es para uso profesional exclusivamente.

INTRODUCCION

La Escherichia coli es una bacteria anaerobia facultativa gram negativa, del genero Escherichia, comúnmente hallado en el intestino bajo de organismos de sangre caliente como flora intestinal normal. Mientras que han sido identificados muchos serotipos, ciertas cepas de E. coli han adquirido genes de toxinas de otras especies bacterianas a través de los plásmidos bacteriófagos. Los grupos Shiga toxigenicos de E. coli (STEC) son patógenos alimentarios que causan enfermedad gastrointestinal, colitis hemorrágica, Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) y muerte, a pesar de que la infección puede ser asintomática. Las tasas de morbilidad y mortalidad en niños, bebés y adultos mayores son especialmente elevadas.

La E. coli O157 es uno de los serotipos STEC más comúnmente implicado en brotes. Los patógenos pueden propagarse por la vía fecal-oral, y también han sido hallados en las hojas verdes crudas contaminadas, agua y carne cruda o mal cocinada.

La mayoría de las E. coli O157 no sorbitol fermentante son móviles y poseen el antígeno H7. Sin embargo la motilidad puede ser difícil de obtener, resultando en la dificultad de detección del antígeno H7. Además, la cepa no sorbitol fermentante de E. coli O157 es ocasionalmente no móvil o móvil, con un antígeno flagelar no tipificable (O157: H-). Por lo tanto, la determinación de antígeno H7 no es necesaria para una evaluación clínica de laboratorio de la cepa de E. coli O157: H75. Los métodos diagnósticos para la E. coli O157 incluyen cultivos en agar Sorbitol MacConkey (SMAC), seguidos de pruebas confirmatorias. Sin embargo, los cultivos llevan tiempo. Un diagnostico más rápido es posible utilizando extracción rápida de ADN de E. coli, mas técnicas de PCR, las cuales son métodos más caros y requieren de personal idóneo y equipamiento sofisticado. La prueba de aglutinación de Látex es también factible, y también se encuentra en desarrollo la detección de anticuerpos. Mientras tanto, debido a la simplicidad y rapidez, el enzimoimmunoensayo (EIA) y la inmunocromatografía para cada antígeno o toxina de E. coli O157 pueden ser valiosos durante investigaciones en brotes La prueba rápida para la detección de E. coli O157 (heces) es un inmunoensayo cualitativo de flujo lateral, para la detección de E. coli O157 shiga -toxigenica en muestras de materia fecal humana. La prueba es específica para E. coli O157 shiga -toxigenica sin reactividad cruzada con la flora intestinal normal y otros patógenos.

PRINCIPIO

La prueba rápida para la detección de E. coli O157 (heces) detecta antígenos de E. coli O157 a través de una interpretación visual de desarrollo de color en la tira interna del dispositivo. Los anticuerpos E. coli O157 se encuentran inmovilizados en la región (T) de la membrana. La muestra de materia fecal es agregada al tubo de dilución con buffer para extraer los antígenos de E. coli O157 de la muestra. Durante el análisis, los antígenos extractados se unen a los anticuerpos conjugados anti-lipopolisacáridos (LPS) a las partículas coloreadas en la zona de la muestra. Al migrar la mezcla a través de la membrana por capilaridad e interactuar con los reactivos en la membrana, el complejo será capturado por anticuerpos anti-E. coli O157 hacia la zona de detección. El exceso de partículas coloreadas es capturado en la zona interna de control (C).

La presencia de una línea roja en la zona de la muestra (T) indica un resultado positivo para antígenos particulares, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. La presencia de una línea coloreada en la zona de control de la membrana sirve como procedimiento de control, indicando que un correcto volumen de muestra ha sido utilizado y que la prueba funciona correctamente.

MATERIALES

Materiales suministrados

Caja conteniendo:

- 25 cassetes
- 25 tubos aplicadores con buffer
- 1 Ficha técnica

Material requerido no suministrado:

- Cronómetro
- Centrifuga
- Recipiente recolector de muestra

ADVERTENCIAS

- Solo para Diagnóstico de Uso " In Vitro". No utilizar después de su fecha de vencimiento.
- No utilizar el dispositivo si el envase se encuentra dañado. No reutilizar los dispositivos.
- No comer, beber o fumar en el área de trabajo mientras las muestras están siendo procesadas.
- Este kit contiene productos de origen animal. El certificado del origen del estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patógenos de transmisión. Considerar todas los productos como potencialmente infecciosas (no ingerir ni inhalar). Observe las precauciones establecidas contra los riesgos microbiológicos (bioseguridad) y siga los procedimientos estándares establecidos para el desecho adecuado de las muestras.
- Los dispositivos son envasados en pouch que los aíslan de la humedad durante su almacenamiento. Inspeccione cada uno antes de abrirlo. No utilice dispositivos que presenten orificios en el envase, o que no se encuentren perfectamente sellados. Resultados

erróneos pueden ocurrir si los componentes y reactivos no son almacenados adecuadamente.

- No utilizar el buffer de dilución si se encuentra turbio o decolorado. Estos pueden ser signos de contaminación microbiana.
- Todas las muestras de los pacientes deben ser tratadas y descartadas como de riesgo biológico. Las muestras deben ser mezcladas completamente antes de analizarse para asegurar una muestra representativa.
- Tomar los cuidados de almacenamiento de las muestras, como les indica en la ficha técnica.
- El no llevar las muestras y reactivos a temperatura ambiente antes de su uso pueden disminuir la sensibilidad de la prueba. Una recolección incorrecta de la muestra, almacenamiento y transporte pueden ocasionar resultados falsos negativos.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- El kit debe ser almacenado en su envase original a temperatura ambiente o refrigerado (entre 2 y 30° C) hasta la fecha de vencimiento impresa en el envase.
- El dispositivo debe permanecer en su envase hasta ser utilizado.
- NO CONGELAR.
- Evitar la contaminación de los componentes de este kit. No utilizar si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitado.

PROCEDIMIENTO

Lleve el cassette, la muestra y/o los controles a temperatura ambiente (15-30° C) antes de su uso.

1. Recolección y pre tratamiento de las muestras:

1. Utilice recipientes secos y limpios para la toma de la muestra. Para mejores resultados, la prueba debe realizarse en el transcurso de 6 horas de recolectada.

2. Para especímenes sólidos: Desenrosque y remueva el tubo aplicador de dilución. Evite derramar o salpicar la solución del tubo. Recolecte la muestra insertando el aplicador en tres lugares distintos de la materia fecal, obteniendo aproximadamente 50 mg. de materia fecal. Para especímenes líquidos: Sostenga la pipeta en posición vertical, aspire la muestra de materia fecal y transfiera 80µl. dentro del tubo de recolección, con el buffer de dilución.

3. Coloque el aplicador nuevamente dentro del tubo y enrosque la tapa. Evite romper la punta del tubo de dilución.

4. Agite vigorosamente el tubo de recolección para mezclar la muestra con el buffer extractor.

2. Análisis de las muestras:

1. Saque el cassette del envase sellado y colóquelo sobre una superficie

limpia y nivelada. Rotule el cassette con los datos del paciente. Para obtener mejores resultados, analizar la muestra dentro de 1 hora.

2. Rompa la punta del tubo de dilución usando papel tissue. Sostenga el tubo en forma vertical y dispense 2 gotas de la solución en el pocillo de la muestra(S) del cassette. Evite la formación de burbujas en el pocillo de muestra(S).

3. Espere la aparición de banda(s) coloreada(s). El resultado debe leerse a los 10 minutos. No interpretar los resultados a los 20 minutos.

NOTA: si la muestra no migra (por presencia de partículas), centrifugue la muestra extractada en el tubo de recolección. Tome 80µl. del sobrenadante y dispénelo en el pocillo de muestra (S) de un nuevo cassette, y siga las instrucciones mencionadas anteriormente.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

POSITIVO:* Aparecen 2 líneas distintas coloreadas. Una línea de color debe aparecer en la región de la línea de Control (C) y otra línea debe estar en la región de línea de prueba (T).

**NOTA: la intensidad del color de la línea en la región de la línea de prueba (T) puede variar dependiendo de la concentración del analito presente en la muestra. Por lo tanto cualquier tonalidad de color en la región de la línea de prueba (T) debe ser considerada positiva.*

NEGATIVO: Una línea de color aparecerá en la región de la línea de control (C). No debe aparecer ninguna línea coloreada en la región de prueba (T).

NO VÁLIDO: No aparece la línea coloreada en la región de la línea de control (C). Volúmenes insuficientes de muestra o técnicas de procedimiento incorrectos son las causas principales. Revise el procedimiento y repita la prueba utilizando una nueva tira de prueba. Si el problema persiste, deje de usar la prueba inmediatamente y contacte a su distribuidor local.

Control de Calidad Interno:

Los controles de procedimiento están incluidos en la prueba. Una línea coloreada verde aparecerá en la región de la línea de control (C) el cual es un control interno de procedimiento. Esto confirma un volumen de muestra suficiente y un procedimiento correcto.

Control de Calidad Externo:

Este kit no proporciona controles externos. Como buena práctica de laboratorio se recomienda el uso de materiales de control para verificar el funcionamiento apropiado del kit.

- La prueba rápida para la detección de E. coli O157 (heces) esta

unicamente indicada para el Diagnóstico de Uso "In Vitro", y debe ser usada para la detección cualitativa de E. coli O157 shiga-toxigenica. La intensidad del color en la zona de la línea positiva no debe ser evaluada como "cuantitativa o semicuantitativa".

- Ambas E. coli O157 tanto viable como no viable, son detectables con la prueba rápida para la detección de E. coli O157 (heces).
- El diagnóstico clínico no debe basarse únicamente en el resultado de la prueba rápida. Un contexto clínico completo del paciente debe ser incluido cuando se toma una decisión diagnóstica, teniendo en cuenta los síntomas clínicos y otra información relevante.
- Un efecto de prozona puede ocurrir cuando la intensidad del color de la banda disminuye, cuando la concentración de antígeno aumenta. Si se sospecha de efecto prozona, la dilución de la muestra puede aumentar la intensidad del color de la banda de la muestra.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Sensibilidad Analítica (Limite de detección)

El límite de detección de la prueba rápida para la detección de E. coli O157 es 2.46 x 10⁴ UFC/ml. de E. coli O157.

Sensibilidad y especificidad clínica

Un total de 413 muestras de materia fecal de pacientes fueron analizadas con la prueba rápida para la detección de E. coli O157 y con otra prueba rápida comercial. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

	Prueba rápida E. coli O157		
Referencia	Positivo	Negativo	Total
Positivo	152	0	152
Negativo	1	260	261
Total	153	260	413

Sensibilidad relativa : >99.9% (97.5%~100%)*

Especificidad relativa: 99.6% (97.9%~99.9%)*

Concordancia total: 99.8% (98.6%~100%)*

***= Intervalo de confianza 95%.**

Reactividad cruzada:

Se estudio la reactividad cruzada de los siguientes organismos a 1,0 x10⁹ organismos/ml. Los siguientes organismos no mostraron reactividad cruzada cuando se analizaron con la prueba rápida para la detección de E. coli O157 (heces).

Staphylococcus aureus
Proteus mirabilis
Neisseria gonorrhoea
Pseudomonas aeruginosa
Neisseria meningitidis
Shigella spp
Enterococcus faecalis
Helicobacter pylori
Proteus vulgaris

Salmonella typhi
Gardnerella vaginalis
Enterococcus faecium
Klebsiella pneumoniae
Acinetobacter calcoaceticus
Hemophilus influenzae
Branhamella catarrhalis
Campylobacter jejuni
Candida albicans

BIBLIOGRAFIA

- Singleton P (1999) Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine (5th Ed.) Wiley. pp. 444-454.
- Griffin PM, Osstroff SM, Tauxe RV, Green KD, Wells JG, Lewis JH et al. Illnesses associated with Escherichia coli O157: H7 infections. A broad clinical spectrum. Ann Intern Med. 1998, 109:705-712.
- Kay BA, Griffin PM, Stockbine VA, Wells JG, Too fast food: Bloody diarrhea and death from Escherichia coli O157:H7. Clin. Micro Newsletter. 1994, 16:17-19.
- Manley WA, Walford JR, Harrison JF, McKee GL. ImmunoCard STAT (ICS) E. coli O157: H7 test in a suspect waterborne outbreak in Wyoming. ASM, Abstract submitted for 1999. General Meeting 1998.
- Tarr. P Escherichia coli O157. Clinical, diagnostic and epidemiological aspects of human infection. Clin. Inf. Dis. 1995, 20:1-10.
- March SB, Ratnam S. Sorbitol-MacConkey medium for detection of Escherichia coli O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. J Clin Microbiol 1986, 23: 869-872.
- Ibekwe, A.M. and Grieve, C.M. (2003) Detection and quantification of Escherichia coli O157:H7 in environmental samples by real-time PCR. Journal of Applied Microbiology 94, 421-431.

IMPORTADOR/ ACONDICIONADOR

MONTEBIO S.R.L.

Vera 575, C.A.B.A., Argentina

Tel. Fax: 4858-0636



Autorizado por ANMAT: PM-246-30

Director Técnico: Farm. Sebastián Antonicelli MN: 14853

Condición de venta: Uso Profesional Exclusivo.

V-00