

E. coli O157 Latex Test

ES

REF DR0620M.....100 Tests

1. E. coli O157 LÁTEX TEST

Prueba de aglutinación de Látex para identificación de E coli serogrupo O157.

Ciertas razas de *Escherichia coli* se han implicado recientemente en algunos casos de colitis hemorrágica (HC) y síndrome urémico hemolítico (HUS).

Se ha demostrado que estas razas producen una verocitotoxina (VT). El serotipo de *E coli* más frecuentemente aislado en casos de HC y HUS es el O157:H7. El aislamiento de este serotipo de heces diarreicas especialmente con sangre es indicativo de raza productora de verocitotoxina^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8}.

La prueba de Látex O157:H7 de Oxoid demuestra por aglutinación en portaobjetos razas *E. coli* que poseen el antígeno de serogrupo O157. Es muy conveniente la utilización de Sorbitol Mac Conkey Agar (Oxoid CM0813) en conjunción con esta prueba. *E. coli* O157:H7 no fermenta el sorbitol y por tanto dará colonias incoloras en este medio. La mayoría de los aislamientos de *E. coli* fermentan el sorbitol y darán por tanto las características colonias rosas.

El Agar Sorbitol Mac Conkey debe utilizarse como medio de cribaje primario. Las colonias que no fermentan el sorbitol pueden por tanto ser ensayadas con el reactivo de Látex, para determinar si el aislamiento pertenece al serogrupo O157 y ser potencialmente productoras de VT.

2. COMPONENTES DEL EQUIPO

DR 621M Látex Test

Partículas azules de Látex sensibilizadas con Anticuerpos específicos de conejo reactivos frente al antígeno somático O157. Cada equipo contiene reactivo suficiente para 100 pruebas.

DR 622M Látex Control

Partículas azules de Látex sensibilizadas con globulinas de conejo preinmunes. Cada equipo contiene reactivo suficiente para 100 pruebas.

DR 623M Suspensión de Control Positivo

Suspensión de células de *E. coli* O157 en buffer inactivadas. Suficiente para 25 pruebas.

DR 624M Suspensión de Control Negativo

Suspensión de células de *E. coli* O116 en buffer. Suficiente para 25 pruebas.

DR 500G Tarjetas de Reacción

Cada equipo: contiene 35 tarjetas de reacción desechables.

Folleto de instrucciones.

3. MATERIAL REQUERIDO

El siguiente material se requiere pero no se suministra con este equipo:

asa microbiológica. mechero bunsen.

Solución salina 0.85%.

Desinfectante apropiado ejem. Hipoclorito sódico >1.3% p/p.

4. PRECAUCIONES

Este producto es exclusivamente para diagnóstico "in vitro".

No congelar.

No deben intercambiarse reactivos con distinto número de lote.

Los reactivos contienen 0.1 % de azida sódica como conservador. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o cobre de las tuberías produciendo azidas metálicas que son explosivas por detonación de contacto. Para prevenir la acumulación de azidas en las tuberías, dejar correr abundante agua inmediatamente después de haberse desecho del material.

Las muestras pueden contener organismos patógenos. Manipular con las debidas precauciones.

5. CONSERVACIÓN

El equipo debe ser conservado entre 2-8°C. Bajo estas condiciones los reactivos permanecerán útiles hasta la fecha de caducidad que figura en la caja del equipo.

6. PROCEDIMIENTO DE CONTROL

Las suspensiones control que se suministran deben utilizarse para comprobar el correcto funcionamiento de los reactivos de látex cada día. antes de ensayar los problemas.

La suspensión de control positivo debe producir aglutinación visible con el reactivo de látex en un minuto.

La suspensión de control negativo no debe producir aglutinación en un minuto.

No utilizar la prueba si las reacciones con las suspensiones control son incorrectas.

7. NOTAS IMPORTANTES AL PROCEDIMIENTO

No dejar que los reactivos de látex se contaminen por permitir que la punta del goteador toque la muestra sobre la tarjeta de reacción.

Asegurarse que las tapas están firmemente ajustadas y cerradas tras su uso para prevenir la contaminación y desecación de los reactivos.

Tras su utilización devolver el equipo a la nevera asegurándose que las botellas quedan en su perfecta posición hacia arriba.

8. MATERIAL DE CULTIVO

Las colonias que no fermentan el sorbitol(NSF) pueden obtenerse a partir de sorbitol Mac Conkey Agar (Oxoid CM0813) o alternativamente pueden inocularse sobre un medio no selectivo tal como un agar nutritivo. Es necesario probar unas 10 colonias NSF separadas para asegurar una alta probabilidad de detección de razas O157 que puedan estar en cultivo mixto con *E. coli* NSF de otros serotipos. La utilización del control de Látex asegurará, que el aislamiento no es una raza autoaglutinable.

9. MÉTODO DE TRABAJO

- Permitir que los reactivos alcancen la temperatura ambiente. Asegurar la perfecta mezcla de la suspensión de Látex por agitación vigorosa. Retirar cualquier resto de Látex que haya quedado en la pipeta del goteador.
- Dispensar una gota del Látex Test sobre uno de los círculos de la tarjeta de reacción. Colocarla en uno de los extremos del círculo.
- Añadir con asa o con pipeta pasteur una gota de solución salina al círculo. Asegurarse que el Látex y la solución salina no se mezclan en este estadio.

4. Por medio de un asa recoger una porción de la colonia a estudiar y cuidadosamente emulsionarla en la gota de sección salina. Asegurar que la suspensión resultante es uniforme.

5. Mezclar el Látex Test junto con la suspensión y extender hasta cubrir la mayor parte del área de reacción, utilizando para ello un asa. Flamear el asa.

6. Rotar el porta con movimiento circular buscando la aglutinación. No rotar la tarjeta más de un minuto y no utilizar lupa para observar la aglutinación.

7. Si no se da la aglutinación proceder a probar otra colonia NSF si están presentes.

8. Si se da la aglutinación con el reactivo Test es necesario probar otra porción de la misma colonia con el reactivo control para asegurar que el aislamiento no es una raza autoaglutinable.

9. Cuando se haya finalizado desechar las tarjetas de reacción en desinfectante.

10. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se obtiene un resultado positivo si el Látex aglutina en un tiempo máximo de 1 minuto. Esto indicará a presencia de *E. coli* serogrupo O157.

La aglutinación que no aparezca en un minuto debe interpretarse como resultado negativo, indica ausencia de *E. coli* serogrupo O157.

Los resultados no deben interpretarse si ha habido aglutinación del Látex Test y Látex control.

Algunas razas de *E. coli* son difíciles de emulsionar en solución salina y pueden dar una reacción de tipo fibroso con ambos reactivos Test y Control.

Esto no es verdaderamente una aglutinación y debe ser ignorada. Si esta fibrosidad es demasiado acusada como para confundir la interpretación del resultado, la colonia debe ser entonces suspendida en 0,3 ml, de solución salina, permitir que el poso sedimente y retestar el sobrenadante.

11. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Si se da un resultado positivo en una colonia de especie desconocida se deben realizar pruebas bioquímicas para confirmar que el organismo es una raza de *E. coli*.

Ni el sorbitol Mac Conkey Agar ni el Látex Test *E. coli* O157 confirmarán directamente el aislamiento como raza productora de toxina.

Se han encontrado otros serotipos productores de Verocitotoxina.

Algunas razas de *Escherichia hermannii* pueden dar reacción cruzada con suero *E. coli* O157 y con Látex test debido a un antígeno compartido (Borczyk) et al¹ *E. hermannii* puede diferenciarse de *E coli* ya que fermentan la celobiosa, crecen en presencia de KCN y producen un pigmento amarillo que puede ser tardío¹⁰.

12. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

La comparación del Látex Test de Oxoid *E. coli* O157 y otros antisueros comercialmente disponibles ha demostrado una correlación del 99.3% (151/152) entre ambos métodos⁹. La sensibilidad de la prueba de Oxoid fue de 100% (49/49) y la

especificidad del 99% (101/103). Las muestras discrepantes fueron posteriormente ensayadas y encontradas positivas para *E. coli* O157. Lo cual está en concordancia con los resultados de la prueba Oxoid.

Los reactivos de Oxoid no demostraron reacción cruzada con otras razas de *E. coli* u otros microorganismos no fermentadores del sorbitol. El test de Oxoid fue realizado directamente de una gran variedad de medios de cultivo. Ninguno de estos medios causó interferencia con el Látex Test.

ATENCIÓN: Este producto contiene de azida sódica. Nocivo por ingestión

13. REFERENCES

- Borczyk A. Lior H. Crebin B (1987) Int. J. Food. Microbiol. 4, 347-349.
- Konowalchuk, J., Speirs, J. and Stavric S. (1977) Infect. Immun. 18, 775-779.
- Scotland S., Day N. and Rowe B. (1980) FEMS. Microbiol. Lett, 7, 15-17.
- Centres for Disease Control (1982) Morbid Mortal Wkly 31 580-585.
- Karmali M, Still, B., Petrick M., and Lim C. (1983), Lancet i, 619-620.
- Johnson, W., Liroh, H. and Bezanson. (1983) Lancet i, 76.
- March S., and Ratnam (1986) J. Clin. Microbiol. 23. - 869-872.
- Krishnan, C., Fitzgerald V., Dakin S., and Behme R. (1987) J. Clin. Microbiol. 25, 1043-1047.
- P.A. Chapman (1989) Evaluation of Commercial latex slide test for identifying *Escherichia coli* O157.42:1109-1110.
- Bremer et al (1982) Journal of Clinical Microbiology Vol. 15 No.4 p.703

Definición De Los Símbolos

REF	Número de catálogo
IVD	Producto sanitario para diagnóstico "in vitro"
i	Consulte las Instrucciones de uso
LOT	Código de lote
TEMP	Límite de temperatura
LOT	Código de lote
EXP	Fecha de caducidad

Fabricante

SISTEMAS AVANZADOS DE ANÁLISIS, S.L.
CIF: B-47700026
C/ Cardenal Torquemada, 24
Tel. 983 251 143 • 637 596 017
47010 VALLADOLID
www.analisisavanzados.com

X4147C Revisado el Marzo 2013

OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke,
Hampshire, RG24 8PW, UK