

USO PROPUESTO

El antisuero de *E. coli* O157 de Pro-Lab es para uso en la prueba de aglutinación en portaobjetos para la identificación de presunción del antígeno de *Escherichia coli* serotipo O157 en medios de cultivo de laboratorio.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

El *Escherichia coli* serotipo O157:H7 es un patógeno productor de verotoxina (productor de VT).^{1,2} Este serotipo ha sido comunicado como agente causal 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 verotoxina.^{7,8,9} Sin embargo, la diarrea producida por estos otros serotipos no suele ser sanguinolenta. Además, el *E. coli* serotipo O157:H7 no fermenta el sorbitol, mientras que la mayoría de los otros serotipos sí lo hacen.^{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

El trabajo de Kauffmann¹², Edward y Ewing¹³, Ewing¹⁴ y Orskov¹⁵ contribuyó al desarrollo de un sistema para la tipificación serológica de los cultivos de *E. coli* y produjo un esquema de clasificación antigénica que puede usarse para identificar los serotipos de *Escherichia coli* que se asocian a bacteriuria o a enfermedad diarreica.

El principio de la prueba conlleva mezclar los organismos sospechosos con el antisuero que contiene anticuerpos frente a *E. coli* O157. Las bacterias se aglutinarán (formarán grumos) en presencia del antisuero homólogo.

REACTIVOS:

El antisuero de *E. coli* O157 de Pro-Lab se elabora usando suero de conejo absorbido entero, con anticuerpos frente al *E. coli* serotipo O157.

El antisuero es para uso en la identificación de presunción o la confirmación de cultivos que se han caracterizado de forma bioquímica previamente.

El antisuero de *E. coli* O157 de Pro-Lab se suministra en un frasco gotero con 3,0 ml de antisuero diluido listo para usar con tiomer sal al 0,01% como conservante.

PRECAUCIONES

1. No utilizar el antisuero después de la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta del producto.
2. El antisuero contiene tiomersal, que es un compuesto muy tóxico basado en mercurio. Aunque la cantidad de tiomersal en

el antisuero es mínima, deben tomarse precauciones de seguridad al manipular, procesar y desechar el reactivo.

3. Evite la contaminación del frasco de reactivo.
4. La muestra de prueba puede contener organismos patógenos para el ser humano y deben manejarse y desecharse como material infeccioso.
5. El reactivo está destinado para un uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*.
6. Para obtener resultados válidos deben seguirse los procedimientos, condiciones de conservación, precauciones y limitaciones especificadas en estas instrucciones de uso.
7. El producto contiene material de origen animal y debe manejarse como potencial portador y transmisor de enfermedades.

MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO

- Portaobjetos de vidrio
- Solución salina normal (solución de cloruro sódico al 0,85%)
- Asas desechables o de alambre
- Palillos de dientes

ESTABILIDAD Y CONSERVACIÓN

El antisuero *E. coli* O157 debe ser conservado tapado herméticamente a 2°C a 8°C. Conservado en estas condiciones, el antisuero puede ser usado hasta la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta del producto.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA Y PREPARACIÓN DEL CULTIVO

Las muestras clínicas deben cultivarse en medio Sorbitol-MacConkey. Las CNFS pueden subcultivarse en medio de agar no selectivo. Las colonias de crecimiento nocturno deben ser eliminadas limpiamente de la superficie de agar para estudiarse mediante un asa estéril. Los cultivos jóvenes, de crecimiento rápido, producirán resultados típicos.

PROCEDIMIENTO

1. Coloque dos gotas separadas de solución salina normal (cloruro sódico al 0,85%) en un portaobjetos de vidrio limpio.
2. Tome una colonia sospechosa de *Escherichia coli* de una placa de cultivo nocturno y mezcle concienzudamente con ambas gotas de solución salina normal sobre el portaobjetos para obtener una suspensión lisa.
3. Añada una gota de antisuero a una de las gotas de suspensión bacteriana en el portaobjetos y al otro (control), añada una gota de solución salina normal.
4. Deben adoptarse precauciones universales al manipular, procesar y desechar todas las muestras clínicas. Todos los materiales del test deben considerarse potencialmente infecciosos durante y después del uso y deben manipularse y eliminarse adecuadamente.
5. Mueva suavemente el portaobjetos hacia delante y atrás durante un minuto y observe si hay aglutinación en condiciones de iluminación normales o usando un objetivo de bajo aumento.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Una aglutinación diferenciada (grumos granulares) en la prueba de antisuero, en 60 segundos, se considera un resultado positivo. No debe haber aglutinación en el control de solución salina o la prueba no es válida (autoaglutinación).






LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Debe incluirse un control de solución salina normal en cada prueba para asegurar la especificidad de la reacción.
2. Las cepas burdas producen autoaglutinación en las pruebas de portaobjetos. Los falsos positivos habitualmente aglutinan en la solución salina normal.
3. Se recomienda comprobar la potencia de los antisueros de *Escherichia coli* con los cultivos de trabajo de estructura antigénica conocida.

REFERENCIAS:

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. 6: 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. 6: 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 *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 hemor-

- rhagic colitis. J. Clin Microbiol. 23:869-872.
12. **Kauffmann, F.** 1947. J. Immunology 57:71-100.
 13. **Edwards, P.R. and Ewing, W.H.** 1972. Identification of Enterobacteriaceae. 3rd edition. Burgess. Minneapolis, Minnesota.
 14. **Ewing, W.H.** 1969. Public Health Lab. 27:19-30.
 15. **Orskov, F.** 1956. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. 29:373.

	= Usar por
LOT	= Numero de lote
REF	= Número de catalogo
	= Fabricante
EC REP	= Representante Autorizado en la Comunidad Europea
	= Contiene suficiente para (n) test
IVD	= 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, dirijase al servicio de atención al cliente de Pro-Lab.