



INSTRUCCIONES DE USO

O157 E. COLI CARD

PRUEBA INMUNOCROMATOGRÁFICA RÁPIDA PARA LA DETECCIÓN DE CUALITATIVA *O157-E. COLI* EN HUMANAS HECES, MUESTRAS DE ALIMENTOS Y EN SOSPECHOSAS COLONIAS

1 - INTRODUCCIÓN Y

Para uso en diagnóstico *in vitro*

La infección por *Escherichia coli O157:H7* (*Escherichia coli* enterohemorrágica, EHEC) presenta un amplio espectro de manifestaciones clínicas, entre las que se incluyen la portación asintomática, la diarrea, la colitis hemorrágica, el síndrome urémico hemolítico (SUH) y trombótica no sanguinolenta púrpura (PTT). no sólo trombocitopénica *Escherichia coli O157:H7* es un agente importante de la colitis hemorrágica, sino que también es una de las principales causas de diarrea bacteriana.

La transmisión de *Escherichia coli O157:H7* se produce principalmente a través de los alimentos. La carne poco cocinada es la culpable más común, pero los productos lácteos y la propagación secundaria de persona a persona también son importantes. El organismo produce al menos dos toxinas similares a la Shiga. Se cree que estas toxinas tienen una importancia patógena directa en la infección por . Esta infección suele diagnosticarse a partir de un coprocultivo positivo, de la presencia de toxinas Shiga, o de ambas cosas. La recogida oportuna (en los 7 días siguientes al inicio de la enfermedad) de una muestra de heces para el cultivo es imprescindible para obtener una alta tasa de recuperación. *Escherichia coli O157:H7*

O157 E. COLI CARD es una prueba manual inmunocromatográfica rápida para la detección cualitativa de *Escherichia coli O157:H7* en alimentos y en muestras de heces humanas, para ayudar en el diagnóstico de infecciones . Es posible detectar la *por E. coli E. coli O157:H7* a partir de colonias sospechosas en cultivo de heces. La prueba ofrece un ensayo de cribado sencillo y altamente sensible para realizar un diagnóstico presuntivo de infección y podría utilizarse para identificar aislados sospechosos de *por Escherichia coli O157:H7 E. coli O157:H7* a partir de medios selectivos.

2 - PRINCIPIO DEL MÉTODO

O157 E. COLI CARD es un método inmunocromatográfico no invasivo, sencillo de realizar, rápido y muy preciso para la determinación de *Escherichia coli O157:H7* en muestras de alimentos, en muestras de heces y en colonias sospechosas de en cultivo de heces *E. coli O157:H7* .

La tira consta de una membrana de nitrocelulosa precubierta con anticuerpos en la línea de prueba (T), en la ventana de resultados, contra *Escherichia coli O157:H7* y con anticuerpos policlonales de conejo, en la línea de control (C), contra una proteína específica. La almohadilla absorbente etiqueta/muestra se rocía con solución de etiqueta de prueba (anticuerpos anti-*Escherichia coli O157:H7*) conjugada con látex de poliestireno rojo y solución de etiqueta de control (proteína de unión específica) conjugada con látex de poliestireno verde, formando complejos conjugados coloreados.

Si la muestra es positiva para *Escherichia coli O157:H7*, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado de color rojo (anti-*Escherichia coli O157:H7* anticuerpos H7-microesferas de poliestireno rojo) que se ha secado previamente en la almohadilla absorbente. A continuación, la mezcla se desplaza hacia arriba en la membrana por acción capilar. A medida que la muestra fluye a través de la membrana de prueba, los complejos conjugados de unión migran. Los anti-*Escherichia coli O157:H7* anticuerpos presentes en la membrana (línea de prueba) capturan el conjugado coloreado y la línea roja será visible. Esta banda se utiliza para interpretar el resultado. *coli O157:H7*

Si la muestra es negativa, no hay presencia de antígeno y, sin embargo, los de *Escherichia coli O157:H7* antígenos pueden estar presentes en una concentración inferior al valor límite de detección, por lo que no se producirá la reacción con el complejo conjugado coloreado en rojo. Los anti-*Escherichia coli O157:H7* anticuerpos presentes en la membrana (línea de prueba) no captarán el complejo conjugado antígeno-color rojo (no formado), por lo que no aparecerá la línea roja. Tanto si la muestra es positiva como si no, la mezcla continúa moviéndose a través de la membrana hasta los anticuerpos específicos inmovilizados colocados en la línea de control. Los anticuerpos proteínicos antiespecíficos presentes en la membrana capturarán el complejo verde-conjugado de control y siempre aparecerá la línea de control. La presencia de esta línea verde sirve como 1) verificación de que se ha añadido un volumen suficiente, 2) de que se ha obtenido un flujo adecuado y 3) un control interno de los reactivos. *coli O157:H7*

3 - MATERIALES SUMINISTRADOS - EMBALAJE

Producto	Tipo	REF	Paquete
O157 E. COLI CARD	Inmunocromatografía prueba	VC1010 (25 pruebas)	25 sellado en bolsa de aluminio que contiene el dispositivo, con desecante. 1 botella de plástico con cuentagotas que contiene el líquido de extracción. (1 x 20mL). 5 pipetas de plástico. Embalaje secundario: caja de cartón.

4 - MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

Recipiente de recogida de muestras, Tubos para la prueba, Guantes desechables, Temporizador. Incubadoras +37°C ± 1°C y Agua purificada. Medio de enriquecimiento *E. COLI O157: EC Broth* (Ref. Biolife 551425), *Sorbitol MacConkey Agar* (Biolife Ref. 541669S); *Bagmiser 1* (Ref. Biolife 7221230),

5 - PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- Todas las operaciones relacionadas con el uso de la prueba deben realizarse de acuerdo con las Buenas Prácticas de Laboratorio.
- O157 E. COLI CARD* es un cualitativo diagnóstico, sólo para uso profesional; debe ser utilizado por personal de laboratorio adecuadamente formado y cualificado *in vitro*
- Este producto no está clasificado como peligroso según la legislación europea vigente.
- Evite tocar la nitrocelulosa con los dedos.
- Todas las muestras deben considerarse potencialmente peligrosas y manipularse de la misma manera que un agente infeccioso.
- Cada dispositivo de prueba es de un solo uso.
- Nunca utilice reactivos de otro lote.
- La prueba, y la prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso debe realizarse en las 2 horas siguientes a la apertura de la bolsa sellada.
- No utilice la prueba si la bolsa está dañada.
- La presencia de líneas amarillas en la ventana de resultados (zona de líneas de control y de prueba) visibles antes de utilizar la prueba es completamente normal. Eso no significa fallo en la funcionalidad de la prueba
- Utilizar guantes para manipular la muestra.





- Guantes desechables, tampón de extracción, tubos de ensayo y dispositivos usados en un contenedor de riesgo biológico .adecuado
- No se puede garantizar la calidad de los reactivos más allá de su fecha de caducidad o si los reactivos se almacenan en condiciones inadecuadas.
- Los certificados de análisis y la ficha de datos de seguridad del producto están disponibles en el sitio web: www.masciabrunelli.it
- Si el producto contiene materias primas de origen animal. La materia prima en cuestión procede de animales que han sido sacrificados en un matadero autorizado y que, tras una inspección antemortem, no han mostrado ningún signo de enfermedad transmisible al hombre o a los animales. En cualquier caso se recomienda que el kit sea tratado como potencialmente infeccioso, y manipulado observando las precauciones específicas habituales: no ingerir, inhalar, ni permitir que entre en contacto con la piel, ojos, mucosas.
- La información proporcionada en este documento ha sido definida según nuestro leal saber y entender y representa una guía para el uso adecuado del producto, pero sin obligación ni responsabilidad. En todos los casos deberán observarse las leyes, reglamentos y procedimientos normalizados locales vigentes para el examen de las muestras recogidas en los distritos orgánicos humanos y animales, para las muestras medioambientales y para los productos destinados al consumo humano o animal. Nuestra información no exime a nuestros clientes de su responsabilidad de comprobar la idoneidad de nuestro producto para el fin previsto.
- Notificar a Mascia Brunelli Spa y a las Autoridades pertinentes cualquier incidente grave que se produzca en relación con el dispositivo de diagnóstico in vitro. complaint@masciabrunelli.it

6 - CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y CADUCIDAD

Una vez recibido, guarde el kit en su envase original a temperatura ambiente o refrigerada (2-30°C/36-89°F). Si se almacena correctamente, el kit puede utilizarse hasta la fecha de caducidad. La prueba del dispositivo debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso. No utilice el dispositivo de prueba después de 2 horas de abrir la bolsa sellada. No congelar.

7 - RECOGIDA DE MUESTRAS Y PROCEDIMIENTO PARA LAS MUESTRAS DE HECES

Muestras fecales: Las muestras de heces deben recogerse limpias en recipientes . Las muestras pueden conservarse en el frigorífico (2-8°C) durante y secos **1-2 días** antes de la prueba. Para un almacenamiento más prolongado, máximo **1 año**, la muestra debe conservarse congelada a -20°C. En este caso, la muestra se descongelará totalmente y se llevará a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Homogeneizar la muestra de heces lo mejor posible antes de la preparación. No se recomiendan ciclos de congelación y descongelación.

Preparación de muestras

Utilice un hisopo o bastoncillo, un cuentagotas y un tubo o vial de ensayo distintos para cada muestra. Dispensar 0,7 mL (o 14 gotas) del tampón de extracción en un tubo de ensayo. Recoger la muestra de heces con un bastoncillo sumergiéndolo en *cuatro* lugares diferentes de la misma muestra de heces. Verificar que se transfiere una pequeña porción de heces (aprox. 125 mg). el Introducir en el tubo de ensayo de plástico. Agitar el tubo de extracción para obtener una solución homogénea. Si es necesario, repetir las operaciones hasta obtener una solución de color marrón amarillento oscuro palillo.

La transferencia de una cantidad demasiado pequeña de heces o el hecho de no mezclar y suspender completamente las heces en el tubo de extracción puede dar lugar a resultados falsos negativos. Se debe tener cuidado de no transferir ni menos ni más de la cantidad indicada. La muestra debe mezclarse bien con un vórtex antes de realizar la prueba. La adición de una cantidad excesiva de heces puede provocar resultados no válidos debido a la restricción del flujo de la muestra. Para **muestras líquidas o semisólidas**, utilizar una pipeta de transferencia, tomando una cantidad de heces de la propia muestra. Dispensar 125µL de la muestra fecal en un tubo que contenga el líquido de extracción (0,7 mL o 14 gotas). Cerrar el tubo que contiene el diluyente y la muestra de heces. Agitar el tubo para asegurar una buena dispersión de la muestra

Procedimiento de ensayo

Deje que las pruebas, las muestras de heces y el tampón alcancen la temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) antes de realizar la prueba. No abra las bolsas hasta que esté listo para realizar el ensayo.

1. Extraiga la tarjeta de prueba de la bolsa protectora. Identifique el casete de plástico con los datos del paciente.
2. Utilice un dispositivo distinto para cada muestra. Extraiga un poco de líquido de la parte superior con un cuentagotas.
3. Dispense 4 gotas en el pocillo de la muestra. Ponga en marcha el temporizador.
4. Leer el resultado a los 10 minutos de dispensar la muestra. No sobrepasar *los 10 minutos*.

Si la prueba no funciona debido a partículas sólidas, agitar la muestra añadida en la ventana de muestra (S) con la varilla. Si no funciona, dispense una gota de diluyente hasta ver correr el líquido por la zona de reacción.

8 - RECOGIDA DE MUESTRAS Y PROCEDIMIENTO PARA MUESTRAS DE ALIMENTOS

Las muestras de alimentos deben recogerse en recipientes limpios y el ensayo debe realizarse inmediatamente después de la recogida. Las muestras pueden conservarse en el frigorífico (2-4 °C) durante 1-2 días antes de la prueba. Para un almacenamiento más prolongado, la muestra debe conservarse congelada a -20°C. En este caso, la se descongelará totalmente y se llevará a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Asegúrese de que sólo se descongela la cantidad necesaria, ya que no se recomiendan los ciclos de congelación y descongelación. Homogeneizar la muestra lo mejor posible antes de la preparación

Enriquecimiento de la muestra:

- Mezclar 25 g de muestra sólida o 25 mL de muestra líquida con 225 mL de medio de enriquecimiento Enrichment media: ECBroth ; si es necesario, homogeneizar con un homogeneizador durante 2 min. (Bagmixer 1)
- Incubar durante 18-24 horas a 37°C ± 1°C.

Procedimiento de ensayo

Deje que las pruebas, las muestras y el tampón alcancen la temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) antes de realizar la prueba. No abra las bolsas hasta que esté listo para realizar el ensayo.

1. Colocar 1 ó 2 mL de muestras de enriquecimiento en un tubo de ensayo y taparlo. Lleve a temperatura ambiente únicamente el número de pruebas necesarias para ensayar antes de abrirlo.
2. Utilice un distinto dispositivo para cada muestra. Extraiga un poco de líquido de la parte superior con un cuentagotas y dispense 150 µL en los muestraspocillos de . Ponga en marcha el temporizador.
3. Leer el resultado a los 5 minutos de dispensar la muestra.

9 - PROCEDIMIENTO DE CULTIVO EN PLACA

Sospecha de colonias de E. coli O157:H7 en cultivo de heces. El agar Sorbitol MacConkey (Biolife Ref. 541669S) es el método de elección para el aislamiento de *E.coli* O157:H7 (atmósfera aeróbica, 24 horas/37°C). Tras 24 horas de incubación en medios selectivostípicas , las colonias serán incoloras. *de E. coli* O157:H7





1. Examinar las placas después de 1 día de incubación. 2. Seleccionar las colonias típicas de *E. coli* O157:H7. Dispensar 0,7 mL (o 14 gotas) de tampón de extracción en un tubo de recogida. Utilizar una aguja inoculadora para recoger 3 ó 4 sospechosas de *E. coli* O157:H7 y añadirlas al tubo de recogida.
2. Cerrar el tubo con el tampón de extracción y las colonias sospechosas. Agitar el tubo para asegurar una buena dispersión de la muestra.

Procedimiento de ensayo

Deje que las pruebas y el tampón alcancen la temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F) antes de realizar la prueba. No abra las bolsas hasta que esté listo para realizar el ensayo.

1. Extraiga la tarjeta de prueba de la bolsa protectora. Identifique el casete de plástico con los datos del paciente.
2. Utilice un dispositivo distinto para cada muestra. Extraiga un poco de líquido de la parte superior con un cuentagotas.
3. Dispense 4 gotas en el pocillo de la muestra. Ponga en marcha el temporizador.
4. Leer el resultado a los 10 minutos de dispensar la muestra. No sobrepasar los 10 minutos.

10 - LECTURA E INTERPRETACIÓN

Interpreta los resultados del siguiente modo:



	E. coli O157:H7	Interpretación de los resultados
1.	- VERDE	No hay presencia de <i>E. coli</i> O157:H7. No hay infección causada por <i>E. coli</i> O157:H7. Resultado negativo.
2.	+ ROJO-VERDE	Hay presencia de <i>E. coli</i> O157:H7. La infección por <i>E. coli</i> O157:H7 se presenta con un amplio espectro de manifestaciones clínicas, que incluyen la portación asintomática, la diarrea no hemorrágica, la colitis hemorrágica, el síndrome urémico hemolítico (SUH) y la púrpura trombocitopénica (PTT).
3.	OTROS RESULTAD	Resultado no válido, se recomienda repetir el ensayo utilizando la misma muestra con otra prueba.

INVÁLIDO: Ausencia total de cualquier línea coloreada de control (VERDE) independientemente de la aparición o no de la línea de prueba (ROJA). Un volumen de muestra insuficiente, técnicas de procedimiento incorrectas o el deterioro de los reactivos son, en la mayoría de los casos, las principales razones del fallo de las líneas de control. Revise el procedimiento y repita el ensayo con una nueva prueba. Si los síntomas o la situación persisten, deje de utilizar el kit de prueba y póngase en contacto con su distribuidor local.

NOTAS SOBRE LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La intensidad de la banda de color rojo en la línea de prueba (T) en las ventanas de resultados variará en función de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, ni el valor cuantitativo ni el índice de aumento de antígenos pueden determinarse mediante esta prueba cualitativa.

11 - CONTROL DE CALIDAD INTERNO

El procedimiento de control de calidad interno está incluido en la prueba. Una línea que aparece en la región de control (C) es un control interno. Confirma un volumen de muestra suficiente y una técnica de procedimiento correcta.

12 - VALORES PREVISTOS

Escherichia coli O157:H7 causa 73.000 enfermedades en Estados Unidos al año. Esto supone 8.598 casos, el 17% requiere hospitalización, el 4% casos de síndrome urémico y el 0,5% muertes. Las principales vías de transmisión son: 52% transmitidas por los alimentos, 21% desconocidas, 14% de persona a persona, 31% transmitidas por el agua, 3% por contacto con animales y 0,3% relacionadas con el laboratorio. hemolítico

13 - CARACTERÍSTICAS DE LOS ESPECTÁCULOS

Sensibilidad analítica (límite de detección)

El valor límite de detección de O157 E.COLI CARD es 1.87x10⁴ CFU/mL.

Sensibilidad y especificidad clínicas

O157 E.COLI CARD se evaluó para determinar la sensibilidad en cultivos de enriquecimiento selectivo y muestras, la especificidad con organismos productores de toxinas Shiga, no productores de toxinas Shiga y otras especies de Enterobacteriaceae (Laboratorio de Referencia para *Escherichia coli* - LREC).

14 STEC cepas (O157:H7 antígeno); 4 no STEC cepas (O157); 9 STEC cepas (no O157); 4 otras Enterobacteriaceae spp.

Los resultados muestran: >99% de sensibilidad, 85% de especificidad, VPP 70% y VPN >99%.

Reacciones cruzadas e interferencias

Se realizó una evaluación para determinar la reactividad cruzada de O157 E.COLI CARD. No hay reactividad cruzada contra patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces: *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*; *Citrobacter freundii*; *C. difficile*; *E. coli* O22:H8, O91:H-, O103:H2, O111:H21, O145:H-, O171:H2, O174:H8; *Klebsiella pneumoniae*; *H. pylori*; *Listeria monocytogenes*; *Morganella morganii*; *Proteus mirabilis*; *Salmonella enteritidis*, *paratyphi*, *typhi*, *typhimurium*; ; *Shigella boydii*, *dysenteriae*, *flexneri*, *sonnei*; *Staphylococcus aureus*; *Yersinia enterocolitica*.

14 - LIMITACIONES DEL MÉTODO

- Un exceso de muestra podría provocar resultados erróneos (aparición de bandas marrones). Diluya la muestra con el líquido de extracción y repita la prueba.
- O157 E.COLI CARD sólo debe utilizarse con muestras de heces humanas. No se ha establecido el uso de otras muestras. La calidad de la prueba depende de la calidad de la muestra; deben obtenerse muestras fecales adecuadas.
- Un resultado positivo determina la presencia de *E. coli* O157:H7 en la muestra (determinación cualitativa); no obstante, un resultado positivo debe ir seguido de técnicas de laboratorio adicionales (método bioquímico o por PCR) para confirmar los resultados. El médico sólo debe tras evaluar todos los hallazgos clínicos y de laboratorio, y debe basarse en la correlación de los resultados con otras observaciones clínicas.
- Un resultado negativo no es significativo porque es posible que la concentración de antígenos en la muestra de heces sea inferior al valor límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, debe realizarse una determinación de en una muestra procedente de un cultivo de enriquecimiento *E. coli* O157:H7





15 - REFERENCIAS

1. THOMPSON, J., HODGE, D. y BORCZYK, A.; "Rapid Biochemical Test to Identify Verocytotoxin-Positive Strains of Escherichia coli Serotype O157"; Journal of Clinical Microbiology, Oct. 1990, Vol. 28, No. 10, pp 2165-2168.
2. VALLANCE B.A. y FINLAY B.B., "Exploitation of host cells by enteropathogenic Escherichia coli", PNAS, agosto de 2000, Vol. 97, n° 16, pp. 8799-8806.
3. BLANCO, M. et al. "Escherichia coli Verotoxigénicos (ECVT) en España: ECVT O157:H7 y NO-O157 en humanos y alimentos. El Ganado bovino y ovino como reservorio. Técnicas para detección de ECVT" Laboratorio de Referencia de Escherichia coli (LREC).

TABLA DE SÍMBOLOS APLICABLES

	Diagnóstico in vitro Productos sanitarios		Limitación de temperatu		Código de lote (DXXX)		Fabricante		Mantener seco		Dispositivo únic identificador
	Consultar instrucciones para su uso		Utilización por (año/mes)		Catálogo número		No reutilizar		Frágil, manipular con atención		Manténgase ale del calor

HISTORIAL DE REVISIONES

Versión	Descripción de los cambios	Fecha
Instrucciones de uso (IFU) - Revisión 5	Diseño y contenido actualizados	2023/03

Nota: los pequeños cambios tipográficos, gramaticales y de formato no se incluyen en el historial de revisiones.



DISTRIBUIDO POR: CPM COMPAGNIA PER LA MEDICINA* S.R.L.
Via degli Olmetti 5, 00060 Formello (RM)– ITALY
Tel: +390690400307
Fax: +390690405270
www.cpm srl.eu – cpm@cpm srl.eu

