

1. Uso previsto

El test NADAL® E. coli O157 es un inmunoensayo rápido cromatográfico para la detección cualitativa de antígenos O157 de *Escherichia coli* (*E. coli*) en muestras fecales humanas. Este test está diseñado para ayudar en el diagnóstico de una infección por *E. coli* y solo es apto para uso profesional.

2. Introducción y significado clínico

La *E. coli* O157:H7 es una de las cientos de cepas de la bacteria *Escherichia coli*. Aunque la mayoría de las cepas son inofensivas, esta cepa produce una poderosa toxina que puede causar una enfermedad grave. La *E. coli* O157:H7 se ha encontrado en los intestinos de ganado sano, ciervos, cabras y ovejas.

La *E. coli* O157:H7 fue reconocida por primera vez como una causa de enfermedad en 1982 durante un brote de diarrea severa y sanguinolenta; el brote se relacionó con hamburguesas contaminadas. Desde entonces, se han producido en todo el mundo más infecciones causadas por comer carne de res poco cocinada que por cualquier otro alimento.

3. Principio del test

El test NADAL® E. coli O157 es un inmunoensayo cualitativo de flujo lateral para la detección de los antígenos de *E. coli* O157 en muestras fecales humanas. Los anticuerpos monoclonales contra los antígenos de *E. coli* O157 se encuentran inmovilizados en la región de la línea de test (T) de la membrana. Durante la prueba, la muestra reacciona con otros anticuerpos anti-*E. coli* O157 conjugados con partículas coloreadas que recubren la tira de test interna. La mezcla se desplaza a lo largo de la membrana por acción capilar. En caso de resultado positivo, los anticuerpos específicos presentes en la membrana reaccionan con la mezcla conjugada y, como resultado, aparece una línea roja en la región de la línea de test (T) de la membrana.

Siempre debe aparecer una línea verde en la región de línea de control (C) y sirve como control del procedimiento, indicando que el volumen de muestra añadido ha sido adecuado y que la membrana se ha empapado suficientemente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 10 casetes de test NADAL® E. coli O157
- 10 tubos para la recolección de la muestra con búfer
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Recipiente para la recolección de la muestra
- Pipeta (en el caso de que la muestra sea líquida)
- Guantes desechables
- Cronómetro

6. Almacenamiento y conservación

Guardé el casete de test en su bolsa sellada a 2-30°C. El test se mantiene estable hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. Mantenga el casete en su envase sellado hasta su uso. No congele los test.

7. Advertencias y precauciones

- Solo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.

- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No debe utilizar el dispositivo si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada muestras en el área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción (región de resultados), a fin de evitar posibles contaminaciones.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo tubo de recolección para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits.
- No coma, beba o fume en la zona de manipulación de las muestras y de realización del test.
- Utilice ropa protectora como batas de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos y las directrices estándar para la correcta eliminación de las muestras.
- El kit de test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar estos productos como potencialmente infecciosos y seguir las medidas de seguridad habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados del test.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.
- Realice la prueba dentro de las 2 horas siguientes a abrir el envase.

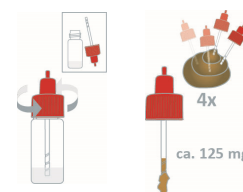
8. Recolección de muestras y preparación

Recolección de las muestras y almacenamiento:

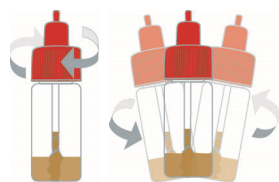
Recolecte una cantidad suficiente de heces (1-2 g o 1-2 mL para muestras líquidas). Las muestras fecales deben recolectarse utilizando un recipiente limpio y seco sin conservantes ni medios de transporte. Puede almacenar las muestras refrigeradas (2-8°C) durante 1-2 días antes de su uso. Para almacenarlas durante un tiempo prolongado (máximo 1 año), congele las muestras a -20°C. En este caso, descongele completamente las muestras y llévelas a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Para el test de cultivo de enriquecimiento, se inoculará una muestra fecal en un medio SMAC y se incubará durante la noche en un agitador a 37°C.

Preparación de las muestras:

Utilice un nuevo tubo con búfer para la recolección de cada muestra. Desenrosque la tapa del tubo e inserte el aplicador en la muestra fecal cuatro veces para recolectar aprox. 125 mg de la muestra.



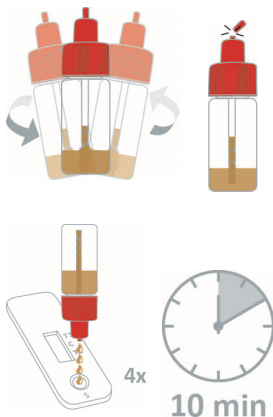
Cierre el tubo que contiene el búfer y la muestra fecal y agítelo para asegurar una buena dispersión de la muestra. Para recolectar muestras fecales líquidas, utilice una pipeta y añada 125 µL al tubo de recolección que contiene el búfer.



9. Procedimiento del test

Lleve los dispositivos y las muestras con el búfer a temperatura ambiente (de 15 a 30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase hasta que todo esté preparado para realizar la prueba. Utilice un test diferente para cada muestra.

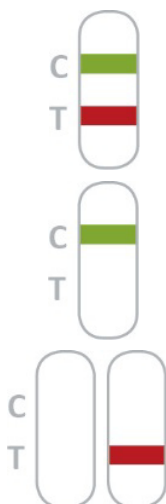
1. Retire el casete de test NADAL® E. coli O157 de su envase y utilícelo lo antes posible.
2. Agite el tubo de recolección para asegurar una buena dispersión de la muestra. Rompa la punta del tubo.
3. Añada exactamente 4 gotas en el pocillo de muestra (S) del casete. Active el cronómetro.
4. Lea el resultado exactamente a los 10 minutos de añadir la muestra.



10. Interpretación del resultado

Positivo:

Aparecen dos líneas en la región de resultados. Aparece una línea verde en la región de la línea de control (C) y una línea roja en la región de la línea de test (T).



Negativo:

Solo aparece una línea verde en la región de la línea de control (C).



No válido:

Si no aparece la línea verde de control (C) la prueba no es válida, independientemente de la presencia o ausencia de la línea roja de test.



Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.

Nota: la intensidad de la línea roja en la región de la línea de test (T) puede variar en función de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, este test es solo cualitativo, por lo que no se puede determinar ni la cantidad ni el ratio de aumento de antígenos.

11. Control de calidad

El casete contiene un control interno del procedimiento:

La aparición de una línea verde en la región de la línea de control (C) se considera un control interno de procedimiento.

Esta línea confirma que el volumen de la muestra ha sido adecuado, que la membrana se ha empapado suficientemente y que la técnica del procedimiento ha sido correcta.

Las *Buenas Prácticas de Laboratorio (BLP)* recomiendan el uso de materiales de control externo para asegurar que el funcionamiento del test es correcto.

12. Limitaciones

- El test NADAL® E. coli O157 solo indica la presencia de antígenos de *E. coli* O157 en la muestra (detección cualitativa) y solo se debe utilizar para la detección de antígenos de *E. coli* O157 en muestras fecales. Este test no detecta ni la cantidad ni el ratio de aumento de la concentración de antígenos de *E. coli* O157.
- Un exceso de muestra puede dar lugar a resultados erróneos (aparición de líneas marrones). Diluya la muestra con el búfer y repita la prueba.
- Algunas muestras fecales pueden hacer disminuir la intensidad de la línea verde de control.
- Si el test muestra un resultado negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar pruebas adicionales utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por *E. coli*.
- Este test proporciona un presunto diagnóstico de infección por *E. coli*. Todos los resultados se deben interpretar junto con la información clínica y de laboratorio de la que dispone el médico.

13. Valores esperados

La *Escherichia coli* O157:H7 es una de las principales causas de enfermedades transmitidas por los alimentos. De acuerdo con una estimación de 1999, cada año se producen en Estados Unidos 73.000 casos de infección y 61 muertes que pueden atribuirse a *Escherichia coli* O157:H7.

14. Características del rendimiento

Sensibilidad y especificidad

Se realizó una evaluación utilizando el test NADAL® E. coli O157. Se analizaron algunas muestras fecales utilizando dicho test NADAL® E. coli O157. Los resultados de esta prueba se confirmaron con los obtenidos mediante cultivos. El test NADAL® E. coli O157 mostró una sensibilidad >99% y una especificidad del 85%.

Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar las reacciones cruzadas del test NADAL® E. coli O157. No se encontraron reacciones cruzadas con los microorganismos gastro-intestinales comunes presentes ocasionalmente en las heces.

<i>Campylobacter</i>	<i>H. pylori</i>	<i>Shigella</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>C. difficile</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella</i>	

15. Referencias

1. Rangel, J. M., Sparling, P. H., Crowe, C., Griffin, P. M. & Swerdlow, D. L. 2005 Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States, 1982–2002. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 603–609.

2. Griffin, P.M. "The Epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated haemolytic uremic syndrome". *Epidemiol. Rev.* 1991, 13:60-98.

Rev. 0, 2017-09-25 GP