

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

<b>MCC P/A</b>	<b>COSMETIKIT®</b>	<b>DRY PLATES®</b>	<b>MUGPLUS</b>
<b>CRIOTECA®</b>	<b>CHROMOSALM</b>	<b>DESINFECTEST®</b>	<b>CCCNT</b>
<b>PLAQUIS®</b>	<b>KITPRO-PLUS</b>	<b>CROMOKIT®</b>	<b>MBS</b>
<b>M-IDENT®</b>	<b>SEILAGUA®</b>	<b>SALMOQUICK</b>	<b>AIRESANO</b>
<b>NEOGRAM</b>	<b>ENVIROCOUNT</b>		



### **M-IDENT®-E. COLI O157 LÁTEX**

**Método de látex para la detección de  
*E.coli* O157 previo cultivo selectivo.  
 Screening negativo de *E.coli* O157:H7  
 (si no hay O157, no hay O157:H7)**

### **Introducción:**

Descrita por primera vez en Canadá en 1977 (1) la *Escherichia coli* productora de verocitotoxina (VTEC), así llamada por su marcado efecto citopático irreversible sobre células de un cultivo de tejidos, tenía hasta hace poco un significado clínico incierto. Su similitud antigénica con *Salmonella* implica un alto grado de diagnosis falsamente negativas para este microorganismo; y sin embargo, se considera un patógeno muy grave, de Clase III (como *Salmonella typhi* o como *Shigella dysenteriae*).

Actualmente la VTEC está considerada una de las principales causas de dos síndromes de etiología incierta hasta el momento: la colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico (2,3). Son los alimentos contaminados el vehículo de infección. La VTEC (*Escherichia coli* productora de verocitotoxina) más frecuentemente asociada con los dos síndromes anteriormente descritos es la *E.coli* O157, que se distingue de otras cepas de *E. coli* por su incapacidad de fermentar sorbitol. Esta característica permite que pueda distinguirse con facilidad a *E.coli* O157 de otras cepas fermentadoras de sorbitol, cuando crece en agar de MacConkey Sorbitol (BCD161) con telurito y cefixime (BCX161). Sin embargo otros organismos no fermentadores de sorbitol pueden crecer en ese medio, de ahí la necesidad de un test sensible y específico para identificar las cepas de *E.coli* O157 de otras bacterias con las que pueden confundirse.

Microkit-*E.coli* O157 permite una rápida diferenciación de *E.coli* O157 de otros serotipos de *E.coli* y otros microorganismos.

### **Fundamento del test:**

Las partículas de látex están recubiertas con anticuerpos producidos contra el antígeno lipopolisacárido O157 de la cepa *E.coli* O157. Cuando las partículas de látex sensibilizadas se mezclan con una suspensión que contiene antígenos de *E.coli* O157, se produce una reacción inmunoquímica sensible y específica que provoca la aglutinación de las partículas de látex en agregados fácilmente visibles a simple vista.

### **Composición del kit:**

Kit para 50 determinaciones O157 (Referencia KMB102):

- Reactivo de látex: partículas de látex recubiertas con anticuerpos anti- *E.coli* O157. 0,02% Thiomersal como conservante.
- Control positivo: Suspensión de *E.coli* O157 inactivado, 0,02% Thiomersal como conservante (manejar con cuidado, como si se tratase de cepa patógena)
- Solución salina isotónica al 0,85%, conservada con 0,1 % de azida sódica. También sirve como control negativo.
- Portaobjetos desechables.
- Palillos desechables para mezclar.

### **Material necesario no suministrado:**

① Placas de agar de MacConkey con 1% de D-sorbitol en lugar de lactosa (Agar MacConkey-Sorbitol) (MICROKIT BCD161). Suplemento selectivo de Telurito y Cefixima (MICROKIT BCX161)

① Solución salina fisiológica.

① Cepas para validar los reactivos una vez llegados a fábrica o tras almacenamientos prolongados o inadecuados.

### **Control positivo:**

Cepa de *E. coli* O157 o bien KPT001 para confirmar que los reactivos le han llegado o se le mantienen operativos. Desde 3/2003 se incluye suspensión microbiana inactivada adicional en el kit.

## **Control negativo:**

Solución salina sin colonias.

## **Conservación:**

El kit debe guardarse en nevera de 2-8 °C. Los reactivos del kit pueden usarse directamente de la nevera sin necesidad de atemperarlos. No usar el kit pasada la fecha de caducidad que aparece indicada en la caja. (1 año desde fabricación)

## **Observaciones:**

1. Los reactivos suministrados en este equipo son para uso in vitro exclusivamente.
2. Los reactivos contienen azida sódica como conservante, que puede reaccionar con material de plomo y cobre formando azidas metálicas explosivas. Después de desechar cualquier líquido por las cañerías, dejar correr grandes cantidades de agua para prevenir la formación de azidas.
3. El kit debe usarse siguiendo las instrucciones de uso. No diluir ninguno de los reactivos. No mezclar reactivos de diferentes lotes. No congelar ninguno de los componentes del kit
4. Observar con cuidado el tipo de aglutinación: reacciones con grumos o filamentos no son auténticas aglutinaciones.

## **Procedimiento de trabajo:**

### A. Método de cultivo

Inocular la muestra en el agar MacConkey-Sorbitol (con Telurito y Cefixime). Incubar aeróbicamente durante 18-24 horas a 35-37 °C. Las cepas potencialmente toxigénicas de *E.coli* O157 aparecen con colonias sin color, de morfología parecida a otras colonias de *E coli* (ver foto comparativa en la ficha del medio MICROKIT Sorbitol MacConkey Agar).

### B. Test de látex

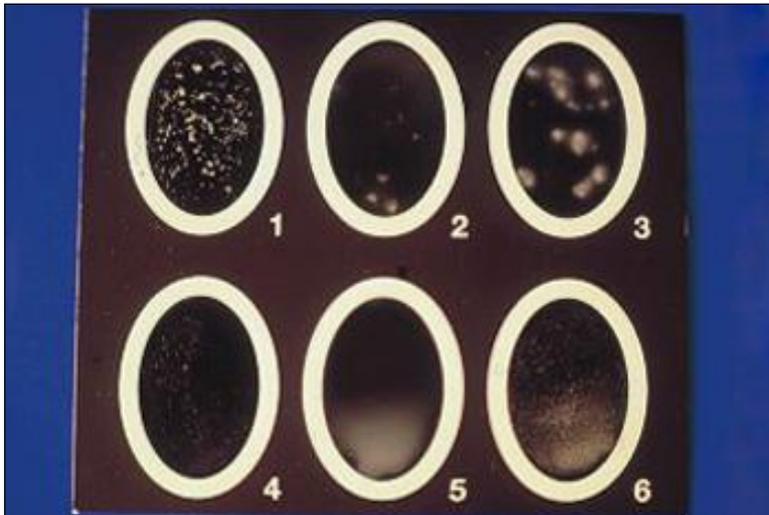
1. Dispensar 30 µl (1 gota) de solución salina isotónica en dos pocillos de un porta de los provistos en el equipo.
2. Seleccionar colonias sin color de la placa de MacConkey-Sorbitol que tengan una morfología parecida a *E.coli*.

3. Con un asa de siembra, recoger varias de esas colonias y hacer una pequeña extensión al lado de la gota de solución salina dispensada previamente.
4. Mezclar las colonias con la solución salina hasta formar una suspensión que se extienda por toda la superficie del pocillo.
5. Balancear suavemente el porta y después de 30 segundos-2 minutos observar si se produce autoaglutinación o grumos. Si la suspensión permanece homogénea, pasar al punto 7. Si se producen grumos o fibras, pasar al punto 6.
6. Si el cultivo es viejo y/o mucoso, es posible que no pueda obtenerse una suspensión homogénea tal y como se describe en los puntos 3-5, En este caso preparar una suspensión hervida tal como se detalla a continuación: Poner 0,5 ml de solución salina isotónica (0,85%) en un tubo y añadir una colonia, homogenizando. Hervir 5 minutos Dejar enfriar hasta temperatura ambiente. Añadir 30 µl de la suspensión hervida en dos pocillo de un porta.
7. Añadir una gota de reactivo de látex MICROKIT *E.coli* O157 a una de las suspensiones bacterianas y una gota de látex control a la otra. Evitar que el gotero del látex toque la superficie de la suspensión bacteriana.
8. Mezclar las suspensiones con un palillo nuevo para cada una.
9. Balancear suavemente el porta y a los 30 segundos-2 minutos observar si se produce aglutinación (presencia de *E.coli* verotoxigénico) o no (ausencia de *E.coli* verotoxigénico, siempre que el control positivo aglutine). **Si hay ausencia de *E.coli* O157, también la hay de O157:H7**
10. Desechar los palillos y los portas en un desinfectante apropiado.
11. Las muestras que aglutinen con el látex control deben ser tratadas de la siguiente manera: Poner 0,5 ml de solución salina isotónica (0,85%) en un tubo. Preparar una suspensión homogénea y turbia de microorganismos con una colonia tomada de la placa de cultivo.
12. Hervir la suspensión durante 10 minutos. Dejarla enfriar hasta que alcance la temperatura ambiente. Poner 30 µl de la suspensión hervida en dos pocillos de un porta provisto en el M-Ident O157 MICROKIT y extenderla por toda la superficie del pocillo.
13. Seguir los pasos 6 al 10 inclusive.

## Interpretación:

Los resultados del MICROKIT *E.coli* deben ser interpretados de la siguiente forma:

<u>Reactivo</u>	<u>Control</u>	<u>Interpretación</u>
+	-	Presencia de <i>E.coli</i> O157
-	-	Ausencia de <i>E.coli</i> O157
+	+	Aglutinación no específica
-	+	Resultado indeterminado



1, 4: Positivos, fuerte y suave (grumos sin fondo lechoso). 5, 6: Negativo (fondo lechoso, sin o con aglutinación). 2, 3: Negativo falsamente positivo (restos de colonias, pelusas, grumos difusos con aspecto lechoso).

## Bibliografía:

- \* Konowalchuk J., Speirs J I., Starvic C. Vero response to a cytotoxin of *E.coli*. J. Infect. Immun. 1977 20 575-7.
- \* Levine M M. *E.coli* that Causes Diarrhoea: Enterotoxigenic, Enteropathogenic, Enteroinvasive, Enterohaemorrhagic and Enteroadherent (1987) J. Infect Diseases Vol 155 No 3, 377-389.
- \* Gronsden W R. Further evidence associates HUS with Infection by verotoxin producing *E.coli*.(1986) vol 154 No 3. 522-524.
- \* Szabo R A., Todd E C D., Jean A. Method to isolate *E.coli* O157H7 from food. (1986) Journal of Food Protection Vol 49 No 10, 768-772.

**¡NOTA: TODA AGLUTINACIÓN CON FONDO LECHOSO DEBE INTERPRETARSE COMO NEGATIVA (LAS COLONIAS MUCOSAS O CARTILAGINOSAS FORMAN GRUMOS PERO NO AGLUTINAN)!**

El usuario es el único responsable de la destrucción de los microorganismos generados en el interior del kit durante su uso, de acuerdo con la legislación medioambiental vigente. Destruir por inmersión en lejía. Mantener fuera del alcance de los niños. No ingerir.

Fabricado en la UE para MICROKIT. desde 1995. Revisado en Mayo, 2020