



CHEMSTRIP® E. coli O157 / O145

Card Test

Test inmunocromatográfico en un solo paso para la detección de anticuerpos IgM anti Escherichia coli O157 y O145 en muestras de suero, plasma y sangre entera de humanos.

One step immunochromatographic test for the detection of IgM anti Escherichia coli O157 and O145 antibodies in human serum, plasma and whole blood.

Autorizado por ANMAT PM 2360-011

Version: 15CSC17_v22112024



LFI A



Humanos



Chemtest Argentina S.A. Director técnico: Dr. Andrés E. Ciochini.
Av. 25 de Mayo 1021, San Martín (C.P. 1650), Buenos Aires, Argentina.
info@chemtest.net - chemtest.net

Nombre y Aplicación

CHEMSTRIP® E. coli O157/O145 es un test inmunocromatográfico en un solo paso para la detección rápida y temprana de anticuerpos IgM dirigidos contra el contra el polisacárido O del lipopolisacárido (LPS) de Escherichia coli de los serogrupos O157 y O145 en muestras de suero, plasma y sangre entera de humanos.

Gracias a la incorporación de la exclusiva tecnología GlycoEng, que permite diseñar y producir glicoproteínas recombinantes, CHEMSTRIP® E. coli O157/O145 posee un excelente desempeño diagnóstico, minimiza las reacciones cruzadas con otras bacterias Gram-negativas y es el primer ensayo sero-específico para O157 y O145 ya que permite diferenciar la infección producida por E. coli O157 y O145 de aquellas ocasionadas por otros serogrupos.

Introducción

Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) es un patógeno importante transmitido por alimentos asociado con casos esporádicos y brotes de diarrea, diarrea sanguinolenta (DS) y síndrome urémico hemolítico (SUH), un trastorno caracterizado por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda. El SUH asociado a diarrea es causado principalmente por serotipos particulares de STEC. Las cepas de STEC se caracterizan por la producción de las toxinas Shiga, Shiga 1 (Stx1) y/o Shiga 2 (Stx2), y la producción de estas toxinas es esencial en la patogénesis de la DS y el SUH. E. coli O157: H7 es el serotipo STEC de mayor prevalencia asociado a casos esporádicos y brotes de DS y SUH en diferentes partes del mundo; sin embargo, otros serogrupos STEC no-O157 como O145, entre otros, pueden causar una enfermedad similar.

El SUH asociado a STEC es la primera causa de insuficiencia renal aguda en niños en todo el mundo y representa el 90% de todos los casos de SUH en esta población. La tasa de incidencia de SUH postdiarreico varía según el país y Argentina tiene la incidencia más alta en todo el mundo con 12-14 casos por cada 100.000 niños menores de 5 años, por año. La mayoría de los casos de SUH en el mundo son causados por STEC del serogrupo O157, pero también otros serogrupos como O145 pueden causar la enfermedad.

El diagnóstico de infección por STEC se basa en el aislamiento y caracterización de la cepa STEC, y la detección de toxina Shiga libre (Stx1 y/o Stx2) en materia fecal (FFStx). Sin embargo, con frecuencia se observan casos de SUH con aislamiento negativo y detección de Stx negativa. Se ha demostrado que STEC se elimina rápidamente durante el pródromo diarreico y con frecuencia cesa antes del inicio del SUH; por estas razones, con frecuencia no se logra aislar el patógeno ni detectar sus toxinas. Los métodos bacteriológicos solos o en combinación con las pruebas de detección de Stx en materia fecal proporcionan evidencia de infección por STEC solo en el 20 a 50% de los niños con diagnóstico clínico de SUH. La combinación de las técnicas bacteriológicas y/o detección de toxina Shiga con el análisis serológico usando el kit CHEMSTRIP® E. coli O157/O145 permite elevar drásticamente (>80%) la eficacia diagnóstica en pacientes con infecciones por STEC. La exclusiva tecnología GlycoEng confiere al producto máxima sensibilidad y especificidad para la detección rápida y temprana de anticuerpos IgM anti-O157 y O145 en muestras de suero, plasma y sangre entera.

Principio de la técnica

CHEMSTRIP® E. coli O157/O145 es un test inmunocromatográfico basado exclusivamente en la detección de anticuerpos del isotipo IgM dirigidos contra el polisacárido O del lipopolisacárido (LPS) de Escherichia coli O157 y O145.

La prueba se basa en la captura inmunológica de nanopartículas de oro recubiertas con anticuerpos de cabra anti-IgM humana durante su paso a través de una membrana. Las inmunoglobulinas de isotipo IgM presentes en la muestra reaccionan con las partículas de oro funcionalizadas con los anticuerpos anti-IgM y los complejos formados migran por cromatografía hacia la zona de reacción. En esta zona se han inmovilizado los antígenos para O157 y O145 (glicoproteínas recombinantes formadas por el polisacárido O157 u O145 unidas a una proteína carrier) en las líneas de ensayo O157 y O145, respectivamente, y anticuerpos anti-IgG de cabra en la línea de control (CL). Si la muestra contiene anticuerpos IgM dirigidos contra polisacárido O de E. coli O157 y/o O145, los complejos nanopartícula-anticuerpo son capturados por

el antígeno correspondiente inmovilizado en la membrana que se visualiza como una banda de color rojo púrpura. Independientemente de la presencia en la muestra de anticuerpos IgM anti-polisacárido O de E. coli O157 u O145, los complejos que no fueron capturados en las líneas de ensayo continúan migrando y son capturados en la CL por los anticuerpos anti-IgG de cabra dando origen también a la formación de una banda de color rojo púrpura. La aparición de la CL indica que la cromatografía se ha desarrollado correctamente y en condiciones que aseguran la reacción antígeno-anticuerpo.

Componentes del kit

Componentes	15-CSC17-10C	15-CSC17-20C
Tarjetas de prueba (en envoltorio trilaminado para protección de la luz y humedad)	x 10	x 20
Diluyente de muestra (gotero de plástico)	1 x 2 ml	1 x 4 ml
Capilares graduados y heparinizados	x 10	x 20
Manual de instrucciones	x 1	x 1

Almacenamiento y vencimiento

- Almacenamiento: conservar a temperatura ambiente entre 15 y 25°C.
- Temperatura de transporte: 15 a 25°C.
- Período de vida útil: 12 meses.

Materiales necesarios no incluidos en el kit

- Cronómetro.
- Micropipeta y puntas descartables (para suero, plasma y sangre).
- Lancetas (para punción venosa).

Precauciones

1. Leer atentamente y seguir todas las instrucciones de uso ajustándose estrictamente al procedimiento detallado en el Manual de instrucciones del kit.
2. Conservar el kit y todos sus componentes a temperatura ambiente (15-25°C).
3. Mantener las tarjetas de prueba en su envoltorio original con desecante y herméticamente cerrado para protegerlas de la luz y la humedad.
4. Sacar las tarjetas de prueba de su envoltorio original solo inmediatamente antes de usarlas.
5. Manipular todos los reactivos y materiales siguiendo la Buenas Prácticas de Laboratorio.
6. Las muestras de suero, plasma y sangre entera deben considerarse potencialmente infecciosas y, por lo tanto, los componentes del kit que las contactan deben manipularse con guantes y descartarse como residuo patológico según la normativa legal vigente. El resto de los componentes del kit no representan ningún daño potencial a la salud o al medio ambiente.
7. No usar el kit pasada la fecha de caducidad o si los componentes no fueron conservados en las condiciones indicadas arriba.
8. No mezclar componentes o manuales de instrucciones de kits de distintos lotes.
9. La conservación correcta de todos los componentes del kit permitirá su uso de este hasta la fecha de caducidad.

Obtención y almacenamiento de las muestras

Las muestras contaminadas, en mal estado y/o mal conservadas pueden producir resultados erróneos.

Sangre entera por punción con lanceta

1. Limpiar la zona que se va a punzar con un una gasa o algodón con etanol 70%.
2. Perforar con una lanceta. Utilizar una lanceta nueva para cada paciente.
3. Tocar con la punta del capilar heparinizado la gota de sangre y colectar hasta la primera marca negra (20 µl) indicada en el tubo capilar (ver figura 1). Evitar la formación de burbujas de aire.
4. Analizar inmediatamente después de la recolección.

Sangre entera por venopunción

1. Colectar las muestras por venopunción en tubos con anticoagulante (heparina o citrato de sodio) y homogeneizar bien para evitar la coagulación de la sangre. No usar EDTA como anticoagulante.
2. Si las muestras no se analizan de forma inmediata se pueden conservar en heladera (2-8°C) durante 1 ó 2 días. En estos casos dejar que las muestras alcancen la temperatura ambiente y homogeneizar bien antes de realizar el análisis. No congelar las muestras de sangre entera.

Plasma

1. Colectar las muestras de sangre por venopunción en tubos con anticoagulante (heparina o citrato de sodio). No usar EDTA como anticoagulante.
2. Obtener el plasma mediante centrifugación de la sangre a 3000 rpm durante 10 min.
3. Si las muestras no se analizan de forma inmediata se pueden conservar en heladera (2 a 8°C) durante 1 o 2 días. Para una conservación más prolongada se deben conservar en el freezer (-15 a -22°C). En estos casos dejar que las muestras alcancen la temperatura ambiente y homogeneizar bien antes de realizar el análisis.

Suero

1. Colectar las muestras por venopunción en tubos SIN anticoagulante.
2. Luego de la coagulación de la sangre (incubar 15 min a 37°C) obtener el suero mediante centrifugación a 3000 rpm durante 10 min.

3. Si las muestras no se analizan de forma inmediata se pueden conservar en heladera (2 a 8°C) durante 1 o 2 días. Para una conservación más prolongada se deben conservar en el freezer (-15 a -22°C). En estos casos dejar que las muestras alcancen la temperatura ambiente y homogeneizar bien antes de realizar el análisis.

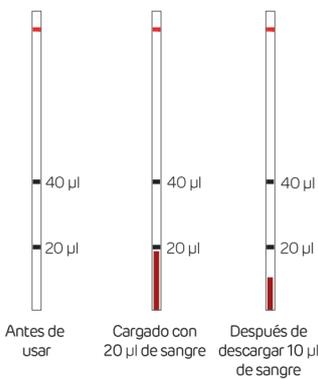


Figura 1: Esquema de los capilares heparinizados y graduados. La marca roja indica que el capilar se encuentra recubierto en su interior con heparina sódica. Las marcas de graduación de color negro indican hasta donde debe cargarse el capilar para coleccionar 20 µl y 40 µl de sangre entera.

Procedimiento (ver figura 2)

1. Retirar la tarjeta de prueba de su envoltorio original y colocarla sobre una superficie limpia y plana.
2. Agregar la muestra y el diluyente de muestra en el pad indicado con la letra S.

Para sangre entera por punción con lanceta

-Descargar en la tira reactiva 10 µl de sangre entera tocando el pad (S) con la punta del capilar precargado. Esperar que la muestra se absorba completamente.

Nota: se recomienda cargar el capilar hasta la marca de 20 µl y luego descargar hasta la zona media entre la marca de 20 µl y la punta del capilar (ver figura 1).
-Agregar sobre el pad (S) de la tira reactiva 3 gotas del Diluyente de muestra. Siempre esperar que se absorba el volumen de diluyente

añadido entre gota y gota.

Para sangre entera por venopunción, suero y plasma

-Agregar con micropipeta 10 µl de la muestra sobre el pad (S). Esperar que la muestra se absorba completamente.

-Agregar sobre el pad (S) de la tira reactiva 3 gotas del Diluyente de muestra. Siempre esperar que se absorba el volumen de diluyente añadido entre gota y gota.

3. Esperar 10 minutos y leer el resultado.

Interpretación de los resultados (ver figura 3)

Positivo O157 y O145: cuando se observan tres bandas de color rojo púrpura. Dos correspondientes a las líneas de ensayo O157 y O145 y la otra a la línea de control (CL). Independientemente de la intensidad de color de las líneas de ensayo el resultado debe considerarse positivo.

Positivo O157 y negativo O145: cuando se observan dos bandas de color rojo púrpura. Una correspondiente a la línea de ensayo O157 y la otra a la línea de control (CL). Independientemente de la intensidad de color de la línea de ensayo de O157 el resultado debe considerarse positivo.

Negativo O157 y positivo O145: cuando se observan dos bandas de color rojo púrpura. Una correspondiente a la línea de ensayo O145 y la otra a la línea de control (CL). Independientemente de la intensidad de color de la línea de ensayo de O145 el resultado debe considerarse positivo.

Negativo O157 y O145: cuando sólo se observa una banda de color rojo púrpura correspondiente a la línea de control (CL).

Inválido: cuando no se observan bandas o sólo se observa una banda o dos bandas correspondientes a las líneas de ensayo y no se observa la CL. En este caso la prueba debe repetirse ajustándose estrictamente al procedimiento detallado en el Manual de instrucciones del kit.

Importante: toda banda que aparezca pasado el tiempo de lectura indicado no tiene valor diagnóstico.

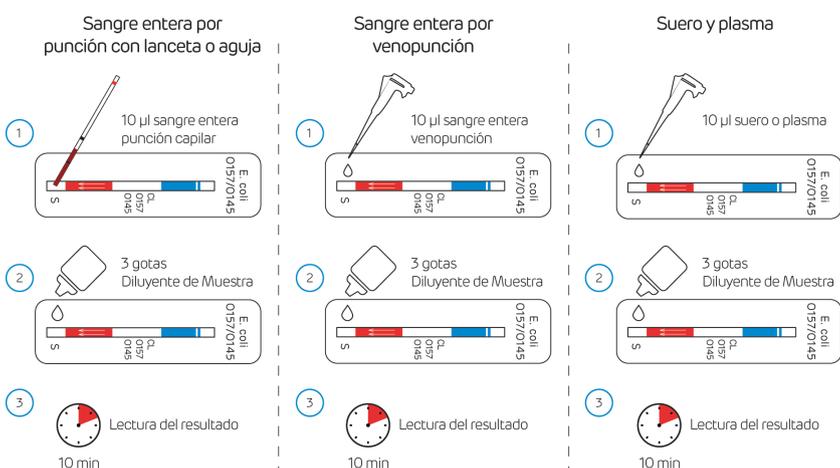


Figura 2: Procedimiento de la prueba para los distintos tipos de muestra.

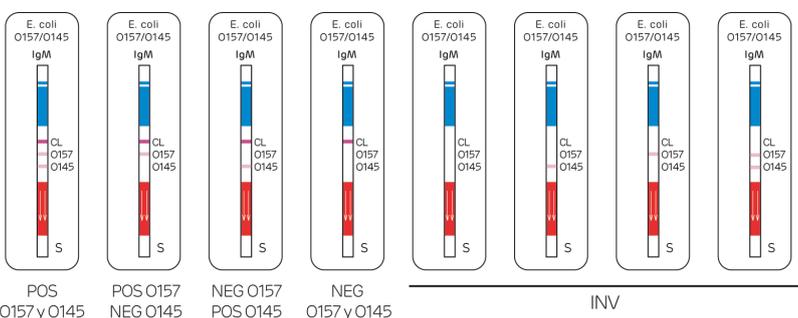


Figura 3: Interpretación de los resultados. POS, positivo; NEG, negativo; INV, inválido.

Evaluación de desempeño

Evaluación de la sensibilidad y especificidad diagnóstica

Para determinar la sensibilidad y especificidad diagnóstica del kit CHEMSTRIP® *E. coli* O157/O145 se analizaron muestras obtenidas de niños menores de 12 años. El grupo de muestras positivas incluyó muestras de pacientes con diagnóstico clínico de Diarrea aguda sanguinolenta (DAS) o Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) y aislamiento positivo y/o serología positiva (evaluada utilizando el kit CHEMLIS® Combi *E. coli* Glyco-iELISA) para *E. coli* de los serogrupos O157 u O145, según corresponda. El grupo de muestras negativas incluyó muestras obtenidas de niños sanos o con patologías no relacionadas del mismo grupo

etario. A partir de los resultados obtenidos se calcularon los parámetros de sensibilidad y especificidad diagnóstica:

	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
<i>E. coli</i> O157	95,7	97,2
<i>E. coli</i> O145	97,9	100

Todas las muestras positivas para O157 resultaron negativas para O145 y viceversa, lo que demuestra la seroespecificidad del test.

Evaluación del desempeño diagnóstico en etapas tempranas de la infección

Para evaluar el desempeño del kit CHEMSTRIP® *E. coli* O157/O145 en etapas tempranas de la infección se analizaron muestras de suero provenientes de pacientes con SUH o DAS y aislamiento positivo para O157 u O145 y se calculó el porcentaje de detección en distintos intervalos de tiempo según los días transcurridos entre la toma de muestra y el inicio de los síntomas (días post-inicio de los síntomas, dpis). Cuando se analizaron las muestras obtenidas antes de los 3 dpis, el porcentaje de detección fue del 80% y a partir de los 3 dpis este porcentaje se elevó al 100% demostrando la utilidad del kit para el diagnóstico temprano de la infección por *E. coli* O157 u O145.

Evaluación del efecto de la matriz

Los diferentes tipos de matriz (sangre entera y plasma) y anticoagulantes (heparina y citrato de sodio) no afectan el resultado de la prueba con respecto a las muestras de suero. No utilizar EDTA como anticoagulante.

Advertencias

Para uso exclusivo profesional. Mantener fuera del alcance de los niños y animales domésticos. Centro Nacional de Intoxicaciones: Tel. 0800-333-0160.

ANMAT

Autorizado por ANMAT PM 2360-011. Chemtest Argentina S.A. Legajo N° 2360. Dir. Técnico: Dr. Andrés E. Ciochini.

Para asistencia técnica

Ante cualquier consulta por favor contactar al tel (+54 11) 5353 6066 o a través de info@chemtest.net / chemtest.net

Referencias

1. A novel multiplex and glycoprotein-based immunochromatographic serologic IgM test for the rapid diagnosis of Escherichia coli O157 and O145 causing bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome. Stella M. Landivar, Luciano J. Mellì, Cynthia Maiztegui, Carla Schesi, Ariela Baschkier, Valeria Francisetti, Isabel Chinen, Elizabeth Miliwebsky, Marta Rivas, Diego J. Comerci, Juan E. Ugalde and Andrés E. Ciochini. J Clin Microbiol. 2024 Oct 31:e0100324. doi: 10.1128/jcm.01003-24.
2. Serogroup-specific bacterial engineered glycoproteins as novel antigenic targets for diagnosis of Shiga toxin-producing Escherichia coli-associated hemolytic uremic syndrome. Luciano J. Mellì, Andrés E. Ciochini, Ana J. Caillava; Nicolás Vozza, Isabel Chinen, Marta Rivas, Mario F. Feldman, Juan E. Ugalde and Diego J. Comerci. J Clin Microbiol. 2015 Feb;53(2):528-38.
3. Boletín integrado de vigilancia N° 560 SE30 / 2021, páginas 59 a 69. Ministerio de salud, Argentina. ISSN 2422-698X (en línea).
4. Boletín integrado de vigilancia N° 702 SE17 / 2024, páginas 58 a 70. Ministerio de salud, Argentina. ISSN 2422-698X (en línea).