

ANTISERUM ESCHERICHIA COLI

SEROTIPIFICACION DE LA *ESCHERICHIA COLI* ANTIPATOGENICA (EPEC)

IVD

1- VALOR CLINICO

Algunos tipos de *Escherichia coli* pueden causar diarreas. Según el mecanismo de su patogenicidad se clasifican en:

- *E. coli* (ETEC) enterotoxigénicas que causa una diarrea parecida a la del cólera. Se diagnostican mediante la demostración de la enterotoxina lábil al calor (LT) o de la enterotoxina estable al calor (ST).
- *E. coli* (EIEC) enteroinvasivas que causan síndromes parecidos a la disentería. Se detectan mediante la prueba de invasividad (cultivo de células HeLa, o la reacción positiva a la prueba de Sereny que se realiza depositando una gota del cultivo en el ojo de una cobaya)
- ***E. coli* enteropatógena (EPEC)** que causa epidemia de diarrea en niños institucionalizados menores de un año **y hasta un máximo de dos años**. Producen una citotoxina activa en las células Vero (de ahí el nombre de Vero-Toxina o VT) que recuerda a las segregadas por la *Shigella dysenteriae*.

Estas EPEC se adhieren a las células epiteliales del intestino delgado y destruyen el borde en forma de cepillo (descrito como "pegado/borrado").

2- OBJETIVO DE LA PRUEBA

Los antisueros de la *Escherichia coli* se utilizan para la identificación serológica de los cultivos de la *Escherichia coli* enteropatógena mediante el método de aglutinación en portaobjetos.

3- PRINCIPIO

La prueba se basa en la aglutinación, mediante determinados sueros, de las bacterias que poseen los correspondientes antígenos. El serotipo de la *E. coli* móvil se define por su antígeno O, su antígeno H y, cuando está presente, su antígeno K.

La identificación del antígeno K dura varios días, ya que la cepa puede ser muy móvil. Por consiguiente, es difícil realizarla en la práctica cotidiana.

Para obtener unos resultados más rápidos, la serotipificación de la EPEC se limita, en la práctica cotidiana, a la identificación del antígeno O (aunque varios serotipos O+H con varias patogenicidades, pueden presentar una especificidad O común).

- En Europa Occidental se encuentran nueve serogrupos de la EPEC:

0111	086	0125
055	0119	0126
026	0127	0128

- Con menor frecuencia se encuentran otros tres serogrupos (incluido el O124, que corresponde a las cepas enteroinvasivas):

0124	0114	0142
------	------	------

Estos antisueros se obtienen al inmunizar Conejos durante 18 horas con cultivos de variantes inmóviles muertas con formalina (H).

4- COMO SE SUMINISTRA

Los sueros polivalentes y monovalentes se suministran en frascos cuentagotas de 3 ml (60 pruebas).

Sueros polivalentes		
Antiserum <i>Escherichia coli</i> nonavalent	mezcla de 9 serotipos: (0111 + 055 + 026 + 086 + 0119 + 0127 + 0125 + 0126 + 0128)	código 57411

Sueros trivalentes		
Antiserum <i>Escherichia coli</i> trivalent I	(O111 + O55 + O26)	código 57331
Antiserum <i>Escherichia coli</i> trivalent II	(O86 + O119 + O127)	código 57341
Antiserum <i>Escherichia coli</i> trivalent III	(O125 + O126 + O128)	código 57351
Antiserum <i>Escherichia coli</i> trivalent IV	(O114 + O124 + O142)	código 57361

Sueros monovalentes			
Antiserum <i>Escherichia coli</i> monovalent	O124 código 57201	Antiserum <i>Escherichia coli</i> monovalent	O125 código 57261
Antiserum <i>Escherichia coli</i> monovalent	O26 código 57211	Antiserum <i>Escherichia coli</i> monovalent	O126 código 57271
Antiserum <i>Escherichia coli</i> monovalent	O55 código 57221	Antiserum <i>Escherichia coli</i> monovalent	O127 código 57281
Antiserum <i>Escherichia coli</i> monovalent	O86 código 57231	Antiserum <i>Escherichia coli</i> monovalent	O128 código 57291
Antiserum <i>Escherichia coli</i> monovalent	O111 código 57241	Antiserum <i>Escherichia coli</i> monovalent	O114 código 57301
Antiserum <i>Escherichia coli</i> monovalent	O119 código 57251	Antiserum <i>Escherichia coli</i> monovalent	O142 código 57311

5- ALMACENAJE

Los sueros almacenados a +2 – 8°C en ausencia de contaminación se mantienen estables hasta la fecha de caducidad que se indica en el kit (incluso una vez abiertos).

6- MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO

- Portaobjetos de cristal.
- Asa de extensión de plástico o de platino
- Suero fisiológico

7- PRECAUCIONES DE USO

- Observe siempre las técnicas y las precauciones habituales relacionadas con la protección contra los riesgos microbiológicos para la manipulación y la eliminación de los materiales y los productos biológicos utilizados para la reacción de la aglutinación.
- Estos sueros contienen azida de sodio <0,1%. La azida de sodio puede reaccionar con el plomo o el cobre presente en las tuberías formando azidas metálicas explosivas. Cuando elimine estos reactivos, aclare con abundante agua para evitar la formación de depósitos de azidas.

8- PRECEDIMIENTO

La serotipificación se realiza tras identificar las especies en un cultivo fresco y puro de *E. coli* aislada en un medio de agar no selectivo.

Proceda a una prueba de control de la cepa que va a probar en suero fisiológico:

- Tome un bucle de cultivo.
- Coloque estas bacterias en una gota de suero fisiológico asegurándose que resulte una suspensión homogénea..

No debería observarse ninguna aglutinación con el suero fisiológico. Si se produce la aglutinación, significa que corresponde a una cepa autoaglutinante y no puede realizarse la prueba con los antisueros.

- Deposite 1 gota de suero inmune en el portaobjetos.
- Tome un bucle de cultivo fresco y puro de *E. coli*.
- Coloque estas bacterias en una gota de suero asegurándose que resulte una suspensión homogénea y vaya añadiendo gradualmente bacterias al suero.
- Examine la mezcla a simple vista encima de una superficie oscura o encima de un espejo cóncavo

9- INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Una reacción positiva corresponde a la aparición de la aglutinación masiva e inmediata. Deberán desecharse las aglutinaciones que tarden más de **5 segundos** después de la suspensión.

10-RESULTADOS DE LA PRUEBA/CONTROL DE CALIDAD

La actividad de los antisueros de la *Escherichia coli* antisera se controla con las siguientes cepas:

		Sueros																
		O111	O55	O26	Trivalent I	O86	O119	O127	Trivalent II	O125	O126	O128	Trivalent III	O124	O114	O142	Trivalent IV	Nonavalent
Cepas de la <i>E. coli</i>	O111	+			+													+
	O55		+		+													+
	O26			+	+													+
	O86					+		+										+
	O119						+	+										+
	O127						+	+										+
	O125								+				+					+
	O126										+		+					+
	O128											+	+					+
	O124													+				+
	O114														+			+
	O142															+		+

+ : reacción positiva → aglutinación instantánea

11-CONTROL DE CALIDAD DEL FABRICANTE

Todos los reactivos fabricados se preparan de conformidad con nuestro Sistema de Calidad, desde la recepción de las materias primas hasta la comercialización final del producto. Todos los lotes se someten a evaluaciones del control de calidad y solamente se lanzan al mercado tras comprobar el cumplimiento de los criterios de aceptación previamente establecidos. Se utiliza Bio-Rad para los registros relativos a la producción y al control de cada lote individual.

12-LIMITACIONES DE USO

- Antes de determinar el serogrupo debe procederse a la identificación de las especies bacterianas.
- Algunas cepas solo pueden aglutinarse mediante sueros no específicos, o mediante sueros no específicos y trivalentes, pero no se aglutinan con sueros monovalentes. Este fenómeno se debe a la enorme cantidad de proteína presente en los sueros polivalentes. La identificación únicamente puede basarse en la específica aglutinación con uno de los sueros monovalentes.
- La aglutinación retrasada, generalmente fina, no tiene ningún valor como diagnóstico. Puede observarse con cepas que poseen fracciones de antígenos O en común con la *E. coli* enteropatogénica. De igual modo, la aglutinación fina en todos los sueros sugiere el estado R de la cepa. Estas cepas se autoaglutinan también en el suero fisiológico.
- Es mejor probar estas aglutinaciones utilizando cultivos en un medio de glucosa o de lactosa que cultivos en un agar nutriente estándar.
- Existen factores antigénicos comunes entre los serogrupos O86 y O127. Por consiguiente, estas cepas se aglutinan consistentemente con el suero homólogo y, posteriormente, con mucha menor intensidad, con el suero heterólogo.



Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33



09/2003