

ENGLISH - ESPAÑOL

Ref: RTB25E
RTB25EC
RTB25ECN



biotical

E. Coli O157:H7 Card

Rapid Test to detect
E. Coli O157:H7 in card
format

Prueba rápida para la
detección de
E. Coli O157:H7 en
formato de tarjeta.

biotical health
ready to test



IU RTB25E-RTB25EC-RTB25ECN Rev. 02 / 2024-02

ISO 13485 CERTIFIED
MEDICAL DEVICE
QUALITY MANAGEMENT SYSTEM





biotical

E. coli O157:H7 Card

ENGLISH

WHAT IS BIOTICAL E. COLI O157:H7 CARD?

biotical E. coli O157:H7 Card is a rapid immunochromatography test for the qualitative detection of *Escherichia coli O157:H7* (*E. coli O157:H7*) in stool samples and suspicious colonies of *E. coli O157:H7* in stool culture. Thanks to its easy handling and high sensitivity, the healthcare professional will be able to make a presumptive diagnosis of infection caused by *E. coli O157:H7* and could be used for the identification of suspected isolates of *E. coli O157:H7* from a selective medium (stool culture).

WHAT IS E. COLI O157: H7?

Escherichia coli (*E. coli*) is a bacterium present in the distal intestine of homeothermic organisms. Most strains of *E. coli* are harmless, but some, such as O157:H7, can cause serious food poisoning.

E. coli O157:H7 belongs to the Enterohemorrhagic group *Escherichia coli*, EHEC (also called Shiga Toxin producing *Escherichia coli*, STEC) for its ability to produce the “Shiga” toxin. This toxin can cause serious poisoning through contaminated products such as raw or undercooked meat, unpasteurized milk, water and fresh products contaminated by faecal matter, and by contagion between people through the faecal-oral route.

Some of the symptoms of the “Shiga” toxin could be: diarrhoea (which may vary from mild and liquid to severe and bloody), abdominal cramps, nausea, vomiting and fever. The incubation period varies between three and eight days, with an average of three to four days. Most patients recover within ten days, but in a small percentage of cases (especially young children and the elderly) the infection can lead to a life-threatening disease, such as Haemolytic Uremic Syndrome (SHU). HUS is characterized by acute renal failure, haemolytic anaemia and thrombocytopenia (platelet deficiency).

To confirm the diagnosis and identify specific toxins, such as those produced by *E. coli O157:H7*, blood, faeces, sometimes urine or other infected material are usually taken and sent to the laboratory for bacterial culture. This procedure may take several days. However, biotical E. coli O157:H7 Card, is a qualitative immunochromatographic test for the detection of *Escherichia coli O157:H7* in stool samples and suspicious colonies of *E. coli O157:H7* in stool culture, fast and easy to handle with which results are obtained in a very short time.

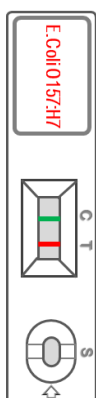
TABLE OF REFERENCES

In the following table will be able to find all the product references related to the acquired test.

REFERENCE	NAME	CONTENT
RTB25E	biotical E. Coli O157:H7 Card	25 Tests without positive or negative controls.
RTB25EC	biotical E. Coli O157:H7 Card (+PC)	25 Tests with positive control, without negative control.
RTB25ECN	biotical E. Coli O157:H7 Card (+PC +NC)	25 Tests with positive and negative control.

HOW DOES BIOTICAL E. COLI O157:H7 CARD WORK?

The card contains inside a test strip with a nitrocellulose membrane that has been previously pre-coated with:



- In **GREEN** line (C): with rabbit polyclonal antibodies against a specific protein.
- In **RED** line (T): with mouse monoclonal antibodies against E. coli O157:H7.
- **Sample area (S)**: the pad where the sample is placed has been dispensed with a test solution (antibodies against E. coli O157:H7) conjugated to red polystyrene latex and a control solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming two conjugate-coloured complexes.

TEST LINES (T):

If the sample is positive: The antigens of the patient's sample will react with the red-coloured conjugate complex (anti E. coli O157:H7 antibodies-red latex microspheres) and advance by capillarity through the membrane. The anti E. coli O157:H7 antibodies present in the membrane of the test line (T), will capture the coloured test complex resulting in the red line.

If the sample is negative: If the sample is negative and therefore does not contain antigens (or the antigen is present in a concentration below the detection limit), there is no reaction with the red coloured complex. The anti E. coli O157:H7 antibodies present in the membrane of the test line (T), will not capture the red coloured antigen-complex (not formed) and the red line will not appear.

CONTROL LINE (C):

Regardless of whether the sample is positive or not, to verify that the test has been performed correctly (sufficient sample volume, appropriate flow, internal control of the reagents, etc.) the mixture will continue moving through the membrane towards the immobilized antibodies against the specific protein located in the control line (C). These specific anti protein antibodies present in the membrane will capture the control conjugate complex and the green control line will always appear.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable until the expiration date marked on its sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

GENERAL PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. A new test must be used for each sample to avoid contamination errors.
- The test and samples should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- Reagents contain preservatives. Avoid any contact with skin or mucous membrane. Consult safety data sheet, available on request.
- Components provided in the kit are approved for use in the test that are supplied. Do not use any other commercial kit component if compatibility is not specified.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- Pale yellow or orange bands may appear in the test strip results window, at the positions where the coloured test and control lines should appear, before the test is performed. These bands are completely normal and correspond to the capture antibodies of the test. The existence of these bands does not alter the state of conservation and functionality of the kit.

MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- Cassette or Test Card.
- Instructions for use.
- Stool collection tubes with diluent.
- Positive Control (only RTB25EC & RTB25ECN references).
- Negative Control (only RTB25ECN reference).

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container.
- Disposable gloves.
- Timer.
- Agar MacConkey-sorbitol (SMACA)

The kit contains materials for the analysis of a maximum of 25 samples or controls.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

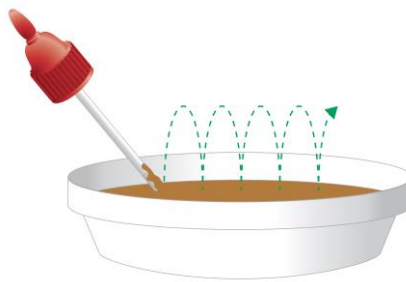
Stool samples should be collected in clean containers. The samples can be stored in the refrigerator (2-8°C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen (-20°C). In this case, the sample will be totally thawed and brought to room temperature before testing. Homogenise stool samples as thoroughly as possible prior to preparation.

Specimen preparation (see illustration):

- Take out the cap of the collection tube **1** and use the stick to pick up sufficient sample quantity. Then, introduce the stick once into 4 different parts of the stool sample **2**, to collect faecal sample (approx. 125mg) and add it to the collection tube. For liquid samples, add approx. 125µL in the collection tube using a micropipette.
- Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion **3**.



1 Collection tube



2 Stool sample



3 Shake vigorously

Suspected E. coli o157:H7 colonies in stool culture:

The Sorbitol MacConkey Agar (SMACA) is the method of choice for the isolation of *E. coli* O157:H7 (aerobic atmosphere, 24 hours/37 °C). After 24 hours of incubation in Sorbitol MacConkey the typical *E. coli* O157:H7 colonies will be small and colourless.

- Examine Sorbitol MacConkey plates after 1 day incubation. Select *E. coli* O157:H7 typical colonies. Take out the cap of the collection tube 1. Use the stick or an inoculating needle to pick up 3 or 4 suspected *E. coli* O157:H7 colonies 2 and add them to the collection tube.
- Close the tube with the diluent and suspected colonies. Shake the tube in order to assure good sample dispersion 3.



E.Coli O157:H7 colonies in SMACA



1 Colection tube



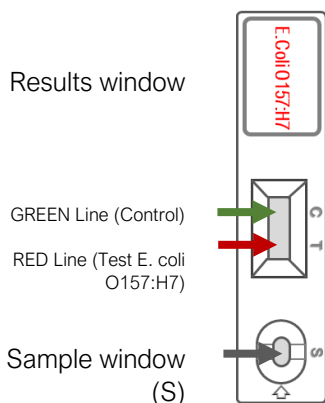
2 E.Coli O157:H7 colonies in plate



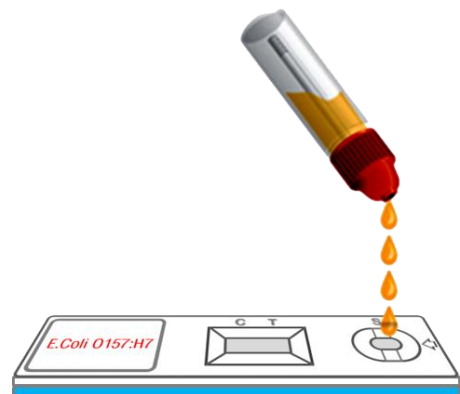
3 shake vigorously

TEST PROCEDURE

Allow tests and samples to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.



4 Cut the end of the cap.



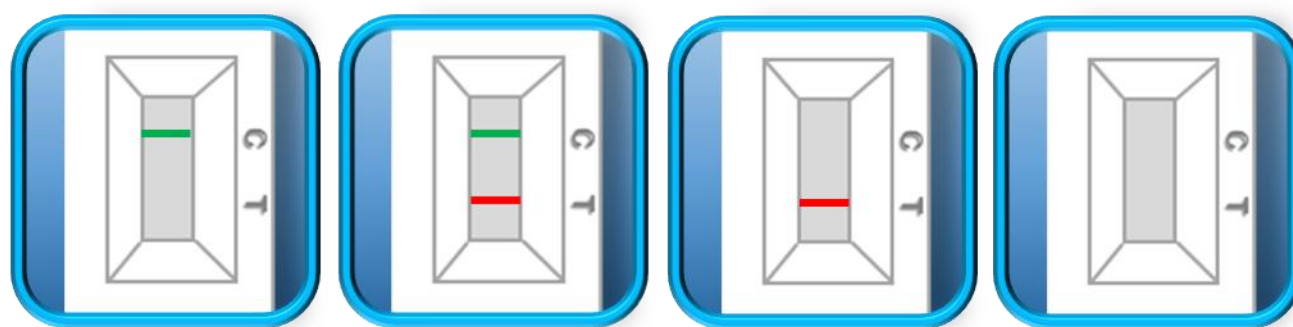
5 Add 4 drops in the circular window (S).

- Proceed to **shake the stool collection tube** in order to assure good sample dispersion.
- Remove the test card from its sealed bag just before using it.
- Take the stool collection tube, **cut the end of the cap** 4.
- **Dispense 4 drops** from the testing tube in the circular window marked with the letter S 5. Avoid adding solid particles with the liquid.
- **Read the results at 10 minutes.** The results will not be valid after 10 minutes.

If the test does not run due to solid particles, stir the sample added in the sample window (S) with the stick. If it doesn't work, dispense a drop of diluent until seeing the liquid running through the reaction zone.

INTERPRETATION OF RESULTS

(Please refer to the illustration below)



NEGATIVE

POSITIVE

INVALID RESULT

INVALID RESULT

	biotical Test	Interpretation of the results
1	C = GREEN LINE T = NO LINE	NEGATIVE Only the GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line). No presence of <i>E. coli O157:H7</i> is detected in the sample.
2	C = GREEN LINE T = RED LINE	POSITIVE In addition to the GREEN control line, a RED line also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window. <i>E. coli O157:H7</i> presence is detected in the sample.
3-4	Any other result	INVALID Total absence of the control line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED) causes an invalid result. Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the result still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured band in the test line (T) in the results windows will vary depending on the concentration of antigens present in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural control is included in the test. A green line appearing in the control line (C) in the results window as an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

The following sections (**POSITIVE CONTROL** & **NEGATIVE CONTROL**) only apply if the corresponding positive and negative controls are available (sold separately or with kits references **RTB25EC** & **RTB25ECN**).

POSITIVE CONTROLS: INTENDED USE & COMPOSITION

The biotal E. coli O157:H7 Positive Control is an external quality control for biotal E. COLI O157:H7 card. Use this control swabs to check that the sample reagents and the test card are working properly.

biotal E. coli O157:H7 Positive Control: inactivated *E. coli* O157:H7 antigens dried in swab containing a preservative.

POSITIVE CONTROLS: TESTING PROCEDURE

Allow tests and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.

Results window

GREEN C line (Control)



RED T line (Test E. coli O157:H7)

Sample window (S)

- 1 Add 15 drops of diluent and introduce the positive control swab into the testing tube.
- 2 Rotating 30 seconds and extract the liquid.
- 3 Add 4 drops in the circular window (S).

- Add 15 drops of diluent and immediately introduce the positive control swab into the testing tube 1.
- Mix the solution by rotating the positive control swab forcefully against the side of the testing tube at least 30 seconds 2. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the testing tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
- Remove the biotal device from its sealed bag just before using it.
- Use a separate pipette and test for each control. Dispense 4 drops from the testing tube in the circular window marked with the letter S 3.
- Read the result at 10 minutes. do not read the test result later than 10 minutes.

POSITIVE CONTROL – INTERPRETATION OF RESULTS

	biotical Test	Interpretation of the results
1	 <p>C = GREEN LINE T = RED LINE</p>	<p>RESULT: CONTROL POSITIVE</p> <p>A GREEN line (C) and a RED line (T) appear across the results window during the test performance due to presence of the antigens in the positive control swab.</p>
2		<p>INVALID RESULT</p> <p>Total absence of the control line (GREEN), regardless the appearance or not of the test line (RED), or only appears the control line.</p> <p>Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the control with a new test and a new positive control swab.</p>

NEGATIVE CONTROL: INTENDED USE & COMPOSITION

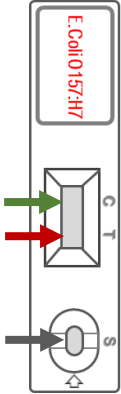
The biotical Negative Control is an external quality control for all immunochromatographic tests manufactured by biotical. Use this control swab to check that the extraction reagents and the test are working properly.

biotical Negative Control is manufactured with negative control buffer dried in swab containing a preservative.

NEGATIVE CONTROL: TESTING PROCEDURE

Allow tests and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.


Results window




GREEN C line (Control)

RED T line (Test E. coli O157:H7)

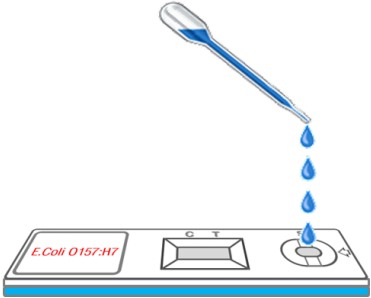
Sample window (S)



1 Add 15 drops of diluent and introduce the negative control swab into the testing tube.





2 Rotating 30 seconds and extract the liquid.



3 Add 4 drops in the circular window (S).

- Add 15 drops of diluent and immediately introduce the negative control swab into the testing tube ①.
- Mix the solution by rotating the negative control swab forcefully against the side of the testing tube at least 30 seconds ②. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the testing tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
- Remove the biotical device from its sealed bag just before using it.
- Use a separate pipette and test for each control. Dispense 4 drops from the testing tube in the circular window marked with the letter S ③.
- Read the result at 10 minutes. do not read the test result later than 10 minutes.

NEGATIVE CONTROL: INTERPRETATION OF RESULTS

	biotical Test	Interpretation of the results
1	 <p>C = GREEN LINE T = NO LINE</p>	<p>RESULT: CONTROL NEGATIVE</p> <p>Only the control line (C) appears across the results window during the test performance.</p>
2		<p>RESULT: INVALID FOR NEGATIVE CONTROL</p> <p>Total absence of the control line, and/or the card shows the test line. Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the main reasons for control line failure.</p> <p>Review the procedure and repeat the control with a new test and a new negative control swab.</p>

LIMITATIONS OF THIS TEST

- The test must be performed within 2 hours after opening the sealed pouch.
- Only fresh or fresh-frozen unpreserved and unfixed stool samples can be tested.
- biotical E. coli O157:H7 Card will only indicate the presence of *E. coli* in the specimen (qualitative detection) and should be used for the detection of *E. coli* antigens in human faeces specimens only. Neither the quantitative value nor the rate of increase in *E. coli* antigens concentration can be determined by this test.
- An excess of sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the buffer and repeat the test.
- Samples should be collected as soon as possible once the symptoms appear. After one week of infection the number of bacteria decrease, making the sample less reactive.
- Some stool samples can decrease the intensity of the control line.
- If the test result is negative and clinical symptoms persist, additional testing using other clinical methods are recommended. A negative result does not at any time preclude the possibility of *E. coli* infection as it may be due to a very low antigen concentration.
- This test provides a presumptive diagnosis of *E. coli* infections. All results must be interpreted together with other clinical information and laboratory findings available to the physician.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity (detection limit)

Detection limit value of biotical E. coli O157:H7 Card is 1.87×10^4 CFU/mL.

Clinical sensitivity and specificity

biotical E. coli O157:H7 Card was evaluated to determine sensibility in selective enrichment culture and samples, specificity with producers' organisms of Shiga toxins, non-Shiga toxins producers and other Enterobacteriaceae species in the Reference Laboratory for Escherichia coli (LREC), Universidad Santiago de Compostela, Lugo (SPAIN).

14 STEC strains (O157:H7 antigen), 4 Non STEC strains (O157), 9 STEC strains (non O157), 4 other Enterobacteriaceae spp.

The results were as follows:

		CULTURE			
		+ STEC (O157 antigen)	- Non STEC (O157)	- Non O157	Total
Biological E. coli O157:H7 Card	+	14	4	2	20
	-	0	0	11	11
	Total	14	4	13	31

	SENSITIVITY	SPECIFICITY	PPV	NPV
<i>Biological E. coli O157:H7 Card vs culture</i>	>99%	85%	70%	>99%

The results showed a high sensitivity and specificity to detect *Escherichia coli O157:H7* using biotical E. coli O157:H7 Card.

CROSS REACTIVITY

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of biotical E. coli O157:H7 Card; no cross reactivity against gastrointestinal organism occasionally present in faeces.

Campylobacter coli
Campylobacter jejuni
Citobacter freundii
Clostridium difficile
E. Coli O22:H8
E. Coli O91:H-
E. Coli O103:H2
E. Coli O111:H21
E. Coli O145:H-

E. Coli O171:H2
E. Coli O174:H8
Klebsiella pneumoniae
Helicobacter pylori
Listeria monocytogenes
Morganella morganii
Proteus mirabilis
Salmonella enteritidis
Salmonella paratyphi

Salmonella typhi
Salmonella typhimurium
Shigella boydii
Shigella dysenteriae
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Yersinia enterocolitica

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS & REAGENTS



In vitro diagnostic device



Consult instructions for use



Keep dry



Use by



Temperature limitation



Manufacturer



Contains sufficient for <n> test

DIL

Sample diluent

LOT

Batch code

REF

Catalogue number



biotical

E. coli O157:H7 Card

ESPAÑOL

¿PARA QUÉ SE USA BIOTICAL E. COLI O157:H7 CARD?

biotical E. coli O157:H7 Card es una prueba rápida de inmunocromatografía para la detección cualitativa de *Escherichia coli O157:H7* (*E. coli O157:H7*) en muestras de heces y de colonias sospechosas de *E. coli O157:H7* en coprocultivo. Gracias a su fácil manejo y su alta sensibilidad, el profesional sanitario podrá realizar un diagnóstico presuntivo de infección causada por *E. coli O157:H7* y podría ser utilizado para la identificación de aislados sospechosos de *E. coli O157:H7* a partir de un medio selectivo (coprocultivo).

¿QUÉ ES E. COLI O157:H7?

La *Escherichia coli* (*E. coli*) es una bacteria presente en el intestino distal de los organismos homeotermos. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inocuas, pero algunas, como la O157:H7, pueden causar graves intoxicaciones alimentarias.

E. coli O157:H7 pertenece al grupo Enterohemorrágico *Escherichia coli*, EHEC (también llamado *Escherichia coli* productora de shigatoxinas, STEC) por su capacidad de producir la toxina "Shiga". Esta toxina puede causar graves intoxicaciones a través productos contaminados como carne cruda o poco cocinada, leche no pasteurizada, agua y productos frescos contaminados por materia fecal, y por contagio entre personas a través de la vía fecal-oral.

Algunos de los síntomas de la toxina "Shiga" pueden ser: diarrea (que puede variar de leve y líquida a grave y con sangre), cólicos abdominales, náuseas, vómitos y fiebre. El periodo de incubación varía entre tres y ocho días, con una media de tres a cuatro días. La mayoría de los pacientes se recuperan en el término de diez días, pero en un pequeño porcentaje de los casos (especialmente niños pequeños y ancianos) la infección puede conducir a una enfermedad potencialmente mortal, como el Síndrome Hemolítico Urémico (SHU). El SHU se caracteriza por una insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica y trombocitopenia (deficiencia de plaquetas).

Para confirmar el diagnóstico e identificar toxinas específicas, tales como las producidas por *E. coli O157:H7*, se suelen tomar muestras de sangre, heces, a veces orina u otro material infectado y se envían al laboratorio para realizar un cultivo bacteriano. Este proceso puede tardar varios días. Sin embargo, biotical E. Coli O157:H7 card, es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de *Escherichia coli O157:H7* en muestras de heces y de colonias sospechosas de *E. coli O157:H7* en coprocultivo, rápida y fácil de manejar con la que se obtienen resultados en un tiempo muy corto.

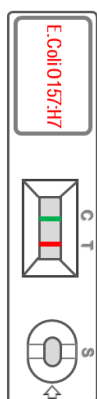
TABLA DE REFERENCIAS

En la siguiente tabla puede encontrar todas las referencias de productos relacionados con el test adquirido.

REFERENCIA	NOMBRE	CONTENIDO
RTB25E	biotical E. coli O157:H7 Card	25 Test sin control positivo ni control negativo.
RTB25EC	biotical E. coli O157:H7 Card (+PC)	25 Test con control positivo, sin control negativo.
RTB25ECN	biotical E. coli O157:H7 Card (+PC +NC)	25 Test con control positivo y negativo.

¿CÓMO FUNCIONA BIOTICAL E. COLI O157:H7 CARD?

El casete (card) posee en su interior una tira reactiva con una membrana de nitrocelulosa que ha sido fijada previamente:



- **En la línea VERDE de control (C):** con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica.
- **En la línea ROJA de test (T):** anticuerpos monoclonales de ratón frente *E. coli* O157:H7.
- **En la zona de muestra (S):** se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea T (anticuerpos frente a *E. coli* O157:H7) conjugados con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde; formando dos complejos coloreados conjugados.

LÍNEA DE TEST (T):

Si la muestra es positiva: Los antígenos de la muestra de heces del paciente reaccionarán con el complejo conjugado coloreado rojo (anti- *E. coli* O157:H7-microesferas rojas de látex) y avanzarán por capilaridad a través de la membrana. Los anticuerpos anti- *E. coli* O157:H7 presentes en la membrana de la línea de test (T) capturarán el complejo coloreado dando lugar a una línea roja.

Si la muestra es negativa: Si la muestra es negativa y por lo tanto no contiene antígenos (o el antígeno está presente en una concentración inferior al límite de detección), no se produce reacción con el complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-*E. coli* O157:H7 presentes en la membrana de la línea del test (T), no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerá la línea roja.

LÍNEA DE CONTROL (C):

Independientemente de que la muestra sea positiva o negativa, para verificar que se ha realizado correctamente el test (volumen de muestra suficiente, flujo apropiado, control interno de los reactivos, etc.) la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en la línea de control (C). Estos anticuerpos antiproteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control y la línea de control verde siempre aparecerá.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES GENERALES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada muestra para evitar errores de contaminación.
- Los test y las muestras deben desecharse en un contenedor de residuos sanitarios adecuado después de su uso.
- Los reactivos contienen conservantes. Evite cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consulte la ficha de datos de seguridad, disponible bajo petición.
- Los componentes incluidos en el kit están aprobados para su uso en la prueba que se suministran. No utilice ningún otro componente de kit comercial si no se especifica la compatibilidad.
- Siga las buenas prácticas de laboratorio, use ropa protectora, use guantes de eliminación, gafas y máscara. No coma, bebe ni fume en el área de trabajo.
- Es posible que aparezcan bandas color amarillo o naranja pálido en la ventana de resultados de las tiras de test, en las posiciones donde deberán aparecer las bandas coloreadas de test y control, antes de que se realice la prueba. Estas bandas son completamente normales y corresponde a los anticuerpos de captura de la prueba. La existencia de estas bandas no altera el estado de conservación y funcionalidad del kit.

MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- Casete o tarjeta (Card) de test.
- Instrucciones de uso.
- Tubos para dilución de muestra con diluyente.
- Control positivo (solo en las referencias RTB25EC & RTB25ECN).
- Control negativo (solo en la referencia RTB25ECN).

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para recogida de muestras.
- Guantes desechables.
- Cronómetro.
- Agar MacConkey-sorbitol (SMACA)

El kit contiene materiales para el análisis de hasta 25 muestras o controles.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras de heces deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se deben conservar en frío (2-8°C) como máximo 1-2 días hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20°C. En este caso, la muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba. Homogeneizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

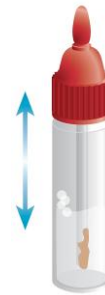
- Abrir el tubo para dilución ① y con ayuda del palito tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas. Para ello se introducirá el palito una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra ②, tomando una cantidad de heces (aprox. 125mg) y posteriormente se introducirá la muestra en el tubo para dilución. Para muestras líquidas, añade aprox. 125µL en el tubo para dilución utilizando una micropipeta.
- Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra ③.



① Tubo para dilución de muestra



② Muestra de heces



③ Agite vigorosamente

Colonias sospechosas de *E. coli* O157:H7 en coprocultivo:

El Agar MacConkey-sorbitol (SMACA) es el método de elección para el aislamiento de *E. coli* O157:H7 (atmósfera aerobia, 24 horas/37 °C). Tras 24 horas de incubación en MacConkey-sorbitol aparecerán las típicas colonias de *E. coli* O157:H7 serán pequeñas y transparentes.

- Examinar las placas MacConkey-sorbitol tras un día de incubación. Seleccionar colonias típicas de *E. coli* O157:H7. Abrir el tubo para dilución ①. Usar el palito o una aguja de siembra para “picar” en 3 ó 4 colonias sospechosas de *E. coli* O157:H7 ② y añadir al tubo para dilución.
- Cerrar el tubo con el diluyente y con las colonias sospechosas. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra ③.



Colonias de *E. coli* O157:H7 en SMACA



① Tubo para dilución de muestra



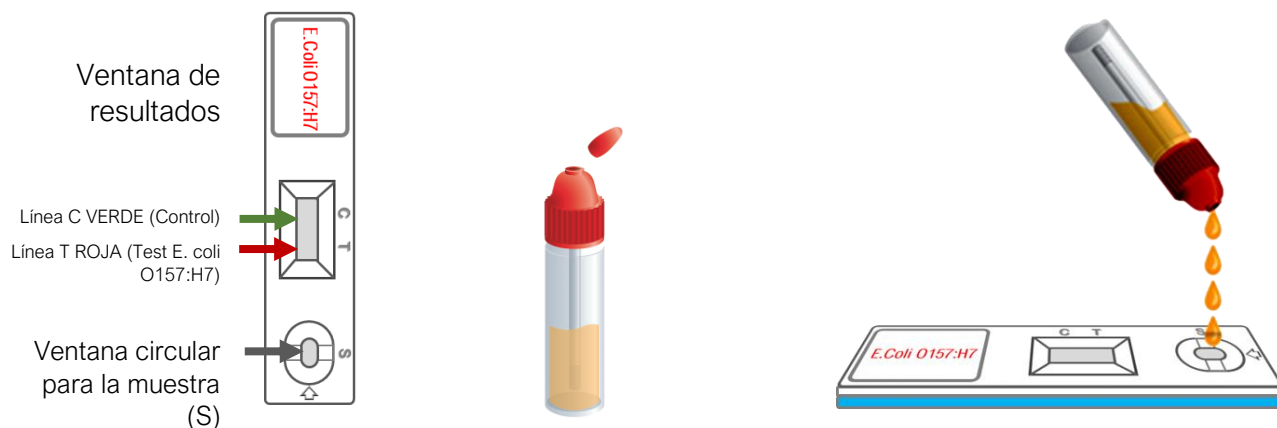
② Colonias de *E. coli* O157:H7 en placa



③ Agite vigorosamente

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Previamente los test, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30 °C). no abrir los envases hasta el momento de la prueba.



4 Cortar el extremo de la tapa.

5 Añadir 4 gotas en la ventana circular (S).

- Proceder a **agitar el tubo de recogida de heces** para asegurar una buena dispersión de la muestra.
- Retire la tarjeta de test (card) de su bolsa sellada justo antes de usarla.
- Tomar el tubo para dilución de muestra, **cortar la punta del tapón** 4.
- **Añadir 4 gotas** del tubo de ensayo en la ventana circular marcada con la letra S 5. Evite añadir partículas sólidas con el líquido.
- **Leer los resultados a los 10 minutos.** Los resultados no serán válidos después de 10 minutos.

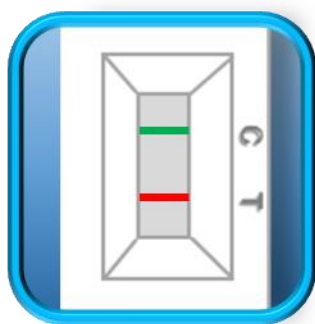
Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas, agitar con el palito la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

(Por favor fijese a la ilustración de abajo)



NEGATIVO



POSITIVO



NO VÁLIDO



NO VÁLIDO

	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	C = LÍNEA VERDE T = NO HAY LÍNEA	NEGATIVO Solo aparece la línea VERDE en la ventana de resultados en el sitio marcado con la letra C (línea de control). No se detecta presencia de <i>E. coli O157:H7</i> en la muestra.
2	C = LÍNEA VERDE T = LÍNEA ROJA	POSITIVO Además de la línea de control VERDE , también aparece una línea ROJA en el sitio marcado con la letra T (línea de test) en la ventana de resultados. Se detecta presencia de <i>E. coli O157:H7</i> en la muestra.
3-4	Cualquier otro resultado	RESULTADO NO VÁLIDO La ausencia total de la línea de control (VERDE) sin importar si aparece o no la línea de test (ROJA) causa un resultado no válido. Un volumen insuficiente de la muestra, técnicas de procedimiento incorrectas o el deterioro de los reactivos son las razones principales por las que aparece este resultado. Revise el procedimiento y repita el ensayo con un nuevo test. Si el resultado persiste, póngase en contacto con su distribuidor local.

NOTAS SOBRE LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La intensidad de la línea de color rojo en la línea de test (T) en la ventana de resultados variará dependiendo de la concentración de antígeno presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígeno pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El test incluye un control interno de procedimiento. La línea verde que aparece en la línea de control (C) en la ventana de resultados es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

Las siguientes secciones (**CONTROL POSITIVO** & **CONTROL NEGATIVO**) solo se aplica si los controles positivo o negativo correspondiente están disponibles (vendidos por separado o con kits con referencias **RTB25EC** & **RTB25ECN**).

CONTROL POSITIVO: USO PREVISTO & COMPOSICIÓN

biotical *E. coli O157:H7* Positive Control es un control positivo externo para usar en el test biotical *E. coli O157:H7* Card. Use este hisopo de control para verificar que los reactivos del kit y la tarjeta de test funcionen correctamente.

biotical *E. coli O157:H7* Positive Control: antígenos de *E. coli O157:H7* inactivados y secados en un hisopo que contiene un conservante.

CONTROL POSITIVO: PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Deje que los test y los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase del test hasta la realización del ensayo.



- **Añadir 15 gotas de diluyente.** Introduzca el hisopo de control en el tubo de prueba 1.
- Mezcle la solución **girando el hisopo de control** con fuerza contra el lado del tubo de prueba al menos **30 segundos** 2. Escurra tanto líquido como sea posible del hisopo, presionando los lados del tubo de prueba a medida que se retira el hisopo. Descartar el hisopo.
- Retire la tarjeta de test biotical correspondiente de su bolsa sellada justo antes de usarlo.
- Use una pipeta y prueba separada para cada control. **Dispense 4 gotas** desde el tubo de prueba en la ventana circular marcada con la letra S 3.
- **Lea el resultado a 10 minutos.** Los resultados no serán válidos transcurridos 10 minutos.

CONTROL POSITIVO: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	<p>C = LÍNEA VERDE T = LÍNEA ROJA</p>	<p>RESULTADO: CONTROL POSITIVO</p> <p>Una línea VERDE (C) y una línea ROJA (T) aparecen en la ventana Resultados debido a la presencia de los antígenos en el hisopo de control positivo.</p>
2		<p>RESULTADO NO VÁLIDO</p> <p>Ausencia total de la línea de control (VERDE), importar si aparece o no la línea de test (ROJA), o bien aparece únicamente la línea de control.</p> <p>Procedimientos incorrectos o deterioro de los reactivos son las razones principales por las que puede no aparecer la línea de control. Revise el procedimiento y repita el control con una nueva tarjeta de test y un nuevo hisopo de control positivo.</p>

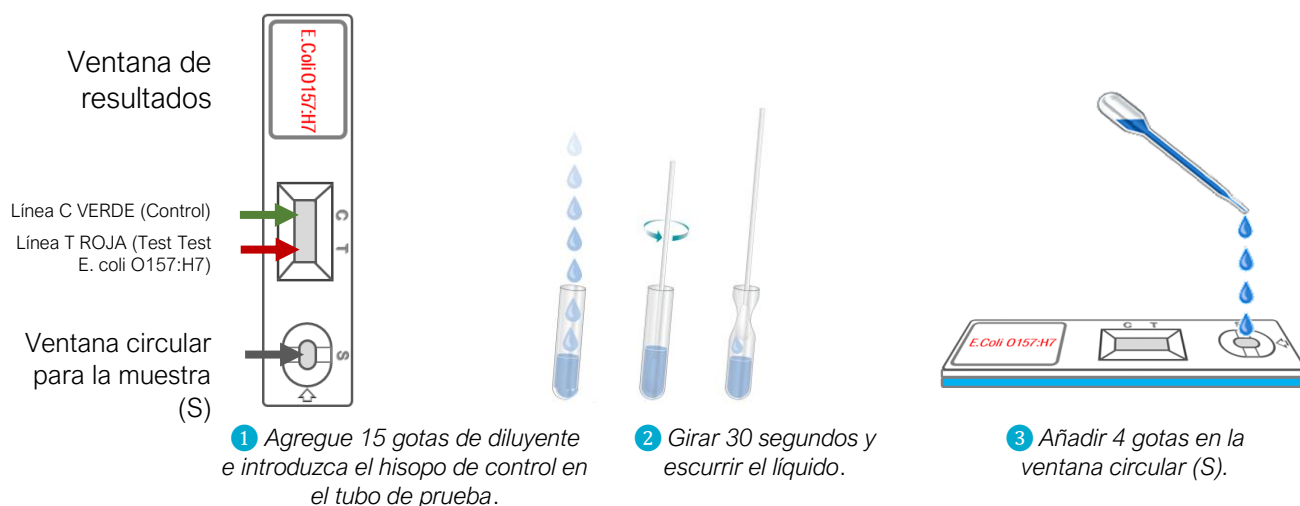
CONTROL NEGATIVO: USO PREVISTO & COMPOSICIÓN

biotical Negative Control es un control de calidad externo para todas las pruebas inmunocromatográficas fabricadas por biotical. Use este hisopo de control para verificar que los reactivos de extracción y la prueba funcionen correctamente.

biotical Negative Control está fabricado con tampón de control negativo secado en hisopo, contiene un conservante.

CONTROL NEGATIVO: PROCEDIMIENTO DE PRUEBA


Deje que los test y los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase del test hasta la realización del ensayo.



- **Añadir 15 gotas de diluyente.** Introduzca el hisopo de control en el tubo de prueba **1**.
- Mezcle la solución **girando el hisopo de control** con fuerza contra el lado del tubo de prueba al menos **30 segundos** **2**. Escurra tanto líquido como sea posible del hisopo, presionando los lados del tubo de prueba a medida que se retira el hisopo. Descartar el hisopo.
- Retire la tarjeta de test biotical correspondiente de su bolsa sellada justo antes de usarlo.
- Use una pipeta y prueba separada para cada control. **Dispense 4 gotas** desde el tubo de prueba en la ventana circular marcada con la letra S **3**.
- **Lea el resultado a 10 minutos.** Los resultados no serán válidos transcurridos 10 minutos.

CONTROL NEGATIVO: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	<p>C = LÍNEA VERDE T = NO HAY LÍNEA</p>	<p>RESULTADO: CONTROL NEGATIVO Solo aparece la línea de control (C) en la ventana de resultados durante la prueba.</p>

2		<p>RESULTADO NO VÁLIDO</p> <p>La ausencia total de la línea de control, y/o aparición de la línea de test. Técnicas de procedimiento incorrectas o deterioro de los reactivos son las razones principales de que no aparezca la línea de control.</p> <p>Revise el procedimiento y repita el control con una nueva prueba y un nuevo hisopo de control negativo.</p>
---	-----------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

LIMITACIONES DEL PRESENTE TEST

- El test debe ser realizado como máximo hasta 2 horas después de haber abierto la bolsa que lo contiene.
- Solo se pueden analizar muestras de heces frescas o congeladas sin conservar.
- biotical E. coli O157:H7 Card solo indicará la presencia de *E. coli* en la muestra (detección cualitativa) y debe usarse solamente para la detección de antígenos de *E. coli* en muestras de heces humanas. Esta prueba no puede determinar ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de antígenos de *E. coli*.
- Un exceso de muestra puede causar resultados incorrectos (aparecen bandas marrones). En este caso diluya la muestra con el tampón y repita la prueba.
- Las muestras deben recogerse lo antes posible una vez que aparezcan los síntomas. Después de una semana de infección, la cantidad de bacterias disminuye, lo que hace que la muestra sea menos reactiva.
- Algunas muestras de heces pueden disminuir la intensidad de la línea de control.
- Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomiendan pruebas adicionales con otros métodos clínicos. Un resultado negativo no impide en ningún momento posibilidad de infección por *E. coli* ya que puede deberse a una concentración de antígeno muy baja.
- Esta prueba proporciona un diagnóstico presuntivo de infecciones por *E. coli*. Todos los resultados deben ser interpretados por un médico junto con otra información clínica y otros resultados de laboratorio disponibles.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica (límite de detección):

El límite de detección de biotical E. coli O157:H7 Card es $1,87 \times 10^4$ UFC/mL.

Sensibilidad clínica y especificidad:

biotical E. coli O157:H7 Card fue evaluado para determinar: la sensibilidad del test en cultivos de enriquecimiento selectivos y muestras, la especificidad sobre cepas productoras de toxina (Shiga toxin), no productoras de esa toxina y cepas de otras especies de la familia *Enterobacteriaceae* se realizaron en el Laboratorio de Referencia de *Escherichia coli* (LREC), Universidad de Santiago de Compostela, Lugo (ESPAÑA).

14 variedades STEC (antígeno O157:H7), variedades no-STEC (O157), 9 variedades STEC (no O157), 4 otras *Enterobacteriaceae* spp.

Los resultados se muestran a continuación:

		CULTIVO			
		+ STEC (0157 antígeno)	- No STEC (0157)	- No 0157	Total
Biotical E. coli O157:H7 Card	+	14	4	2	20
	-	0	0	11	11
	Total	14	4	13	31

	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VPP	VPN
<i>Biotical E. coli O157:H7 Card vs cultivo</i>	>99%	85%	70%	>99%

Los resultados mostraron que biotical E. coli O157:H7 Card presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar *E. coli O157:H7*.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas del test biotical E. coli O157:H7 Card; no se detectó reacción cruzada con patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces:

Campylobacter coli
Campylobacter jejuni
Citobacter freundii
Clostridium difficile
E. Coli O22:H8
E. Coli O91:H-
E. Coli O103:H2
E. Coli O111:H21
E. Coli O145:H-

E. Coli O171:H2
E. Coli O174:H8
Klebsiella pneumoniae
Helicobacter pylori
Listeria monocytogenes
Morganella morganii
Proteus mirabilis
Salmonella enteritidis
Salmonella paratyphi

Salmonella typhi
Salmonella typhimurium
Shigella boydii
Shigella dysenteriae
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Yersinia enterocolitica

SÍMBOLOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS DE IVD



Producto para diagnóstico *in vitro*



Consultar las instrucciones de uso



Almacenar en lugar seco



Fecha de caducidad



Limitación de temperatura



Fabricante



Contiene <n> test

DIL

Diluyente de muestra

LOT

Número de lote

REF

Número de referencia



REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA /

- 1- THOMPSON, J., HODGE, D. and 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. and FINLAY B.B., "Exploitation of host cells by enteropathogenic Escherichia coli", PNAS, August 2000, Vol. 97, No. 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), Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela, 27002 Lugo.



Sierra de Guadarrama, 1.
28830 San Fernando de Henares. Madrid
Tel.: + 34 91 677 43 08

info@biotical.es
www.biotical.es



biotical health S.L.U.

