



CHEMTEST™

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

15CSC17_v03112022

Español

CHEMSTRIP® E. coli O157/O145

Card Test

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



CHEMTEST™

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
Tarjeta 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

Materiales necesarios no incluidos en el kit

-Cronómetro.



CHEMTEST™

- Micropipeta y puntas descartables (para suero, plasma y sangre).
- Lancetas o agujas (para punción capilar).
- Gasa y desinfectante.

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.

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 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 los componentes del kit permitirá su uso 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 o aguja

1. Limpiar la zona que se va a punzar con un una gasa o algodón con etanol 70%.
2. Perforar con una lanceta o aguja estéril. Utilizar una lanceta/aguja nueva para cada paciente.
3. Tocar con la punta del capilar heparinizado la gota de sangre y coleccionar hasta la segunda marca negra (40 µl) indicada en el tubo capilar (ver figura 1). Evitar la formación de burbujas de aire.
4. Analizar inmediatamente después de la recolección.



CHEMTEST™

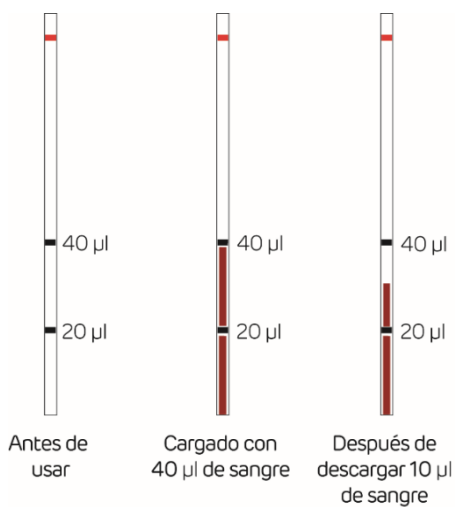


Figura 1: Esquema de los capilares heparinizados y graduados. La marca roja indica que el capilar se encuentra recubierto en su interior con heparina sódica. Las marcas de graduación de color negro indican hasta donde se debe cargar el capilar para coleccionar 20 µl y 40 µl de sangre entera.

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 en forma inmediata estas se pueden conservar refrigeradas en la heladera (2 a 8 °C) hasta 72 hs. Para una conservación más prolongada conservar a -20°C (-15 a -20°C) teniendo en cuenta que durante la conservación y como consecuencia del proceso de congelado y descongelado el título de anticuerpos puede cambiar y producir resultados erróneos. Si las muestras se congelan, estas se deben descongelar totalmente, homogeneizar y centrifugar 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 en forma inmediata estas se pueden conservar refrigeradas en la heladera (2 a 8 °C) hasta 72 hs. Para una conservación más prolongada conservar a -20°C (-15 a -20°C) teniendo en cuenta que durante la conservación y como consecuencia del proceso de congelado y descongelado el título de anticuerpos puede cambiar y producir resultados erróneos. Si las muestras se congelan, estas se deben descongelar totalmente, homogeneizar y centrifugar antes de realizar el análisis

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.



CHEMTEST™

Para sangre entera por punción con lanceta o aguja

-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 40 µl y luego descargar hasta la zona media entre las marcas de 40 y 20 µl (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.

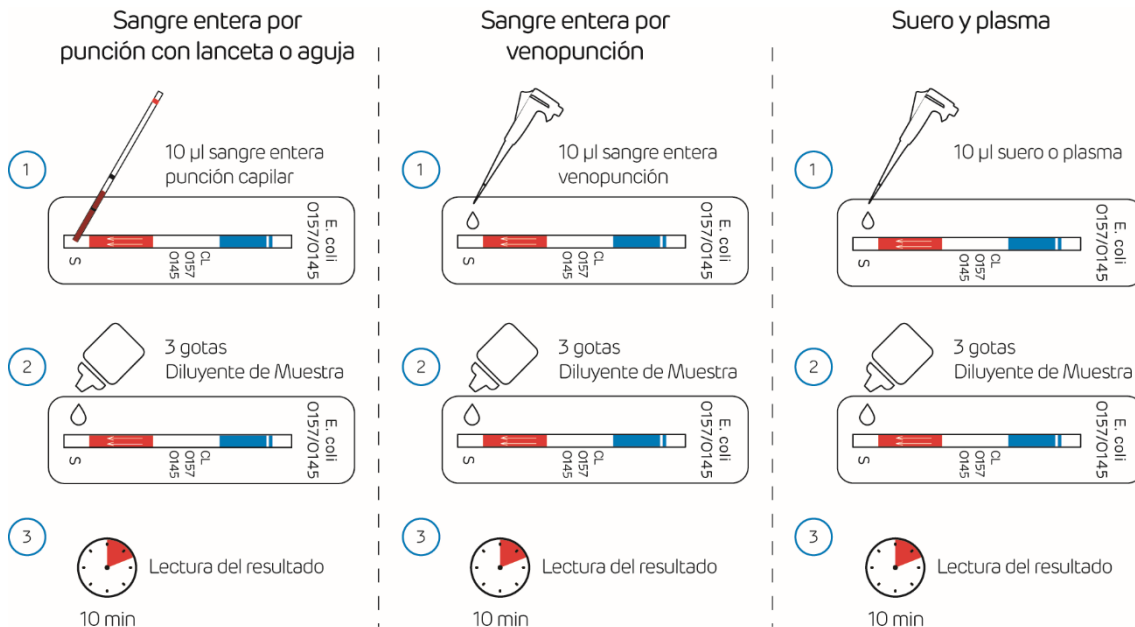


Figura 2: Procedimiento de la prueba para los distintos tipos de muestra.

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.



CHEMTEST™

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.

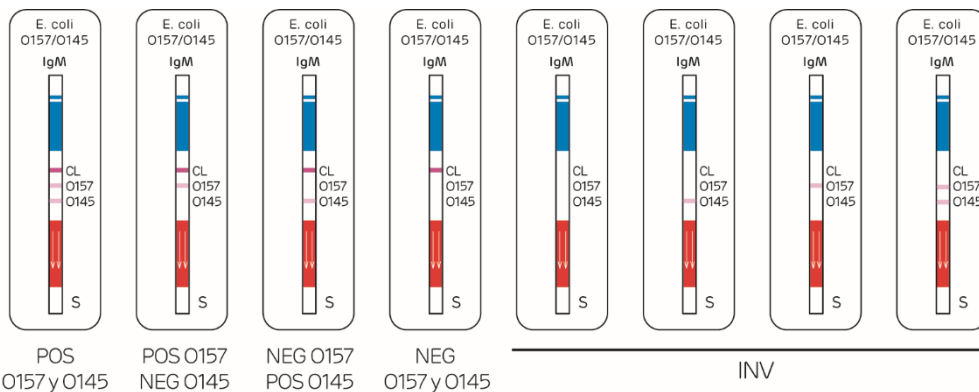


Figura 3: Interpretación de los resultados. POS, positivo; NEG, negativo; INV, inválido.

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

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 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



CHEMTEST™

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.

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.
- Director Técnico: Dr. Andrés E. Ciocchini.

Para asistencia técnica

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

English

CHEMSTRIP® *E. coli* O157/O145

Card Test

Name and Intended use

CHEMSTRIP® *E. coli* O157/O145 is a one-step immunochromatographic test for the rapid and early detection of IgM antibodies against the O polysaccharide of the lipopolysaccharide (LPS) of *Escherichia coli* O157 and O145 in human serum, plasma, and whole blood samples.

Thanks to the incorporation of the exclusive GlycoEng technology that allows to obtain recombinant glycoprotein-based antigens, CHEMSTRIP® *E. coli* O157/O145 has an excellent diagnostic performance, minimizes cross-reaction with other Gram-negative bacteria and it is the first serospecific assay for O157 and O145 that allows to differentiate O157 and O145 *E. coli* infections from those caused by other *E. coli* serogroups.

Introduction

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) is an important foodborne pathogen associated with sporadic cases and outbreaks of diarrhea, bloody diarrhea (BD) and hemolytic uremic syndrome (HUS), a disorder characterized by microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia, and acute renal failure. Diarrhea associated HUS is caused mainly by particular STEC serotypes. STEC strains are characterized by the production of Shiga toxins, Shiga 1 (Stx1) and/or Shiga 2 (Stx2), and the production of these toxins is



CHEMTEST™

essential in the pathogenesis of BD and HUS. *E. coli* O157: H7 is the dominant STEC serotype associated with sporadic cases and outbreaks of BD and HUS in different parts of the world.

STEC associated HUS is the most common cause of acute renal failure in children worldwide and accounts for 90% of all cases of HUS in this population. The incidence rate of post-diarrheal HUS varies according to the country and Argentina shows the highest incidence worldwide with 12-14 cases per 100,000 children less than 5 years of age per year. Most cases of HUS in the world are caused by STEC O157, but other serogroups such as O145 can also cause the disease.

The diagnosis of STEC infections is based on the isolation and characterization of STEC strains, and the detection of free fecal Shiga toxin (FFStx). However, cases of HUS with negative STEC isolation and negative FFSTx are frequently observed. It has been demonstrated that STEC is rapidly cleared during the diarrheal prodrome and often ceases before the onset of HUS; for these reasons, it is often not possible to isolate the pathogen or detect its toxins. So, alternative laboratory diagnostic methods have been used such as the detection of antibodies against the LPS of STEC strains. All available serologic tests use inactivated bacteria, bacterial extracts that contain high concentrations of LPS or purified LPS as antigen. Consequently, these assays show high rates of false positive reactions due to the presence of antibodies directed against epitopes present in the lipid A and the core of LPS shared by different STEC strains as well as other bacteria. Bacteriological methods, alone or in combination with tests for the detection FFSTx, provide evidence of STEC infection in only 20 to 50% of children with a clinical diagnosis of HUS. The combination of bacteriological and/or Shiga toxins detection techniques with the serological analysis using the CHEMSTRIP® *E. coli* O157/O145 kit allows to drastically increase the diagnostic efficiency to more than 80% in patients with STEC O157 infections. The exclusive GlycoEng technology incorporated in the CHEMSTRIP® *E. coli* O157/O145 kit confers maximum specificity and sensitivity for the rapid and early detection of anti-O157 and anti-O145 antibodies.

Test principle

The CHEMSTRIP® *E. coli* O157/O145 is an immunochromatographic test based on the detection of IgM antibodies directed against the O polysaccharide of the lipopolysaccharide (LPS) of *E. coli* O157 and O145.

The test is based on the immunological capture of gold nanoparticles coated with goat anti-human IgM antibodies during its passage through a membrane. The IgM isotype immunoglobulins present in the sample react with the gold particles functionalized with the anti-IgM antibodies and the formed complexes migrate by chromatography to the reaction zone. In this area, the antigens for O157 and O145 (recombinant glycoproteins formed by the O157 or O145 polysaccharide linked to a carrier protein) were immobilized in the test lines O157 and O145, respectively, and donkey anti-goat IgG antibodies were immobilized in the control line (CL).

If the sample contains IgM antibodies directed against the *E. coli* O157 and/or *E. coli* O145 polysaccharide, the nanoparticle-antibody complexes are captured by the corresponding antigen immobilized on the membrane which is visualized as a purple red band. Regardless of the presence in the sample of anti-O157 or anti-O145 IgM antibodies, the complexes that were not captured in the test lines continue to migrate and are captured in the CL by the anti-goat IgG antibodies, leading also to the formation of a red purple band. The appearance of the CL indicates that the chromatography has been developed correctly and under conditions that ensure the antigen-antibody reaction.



CHEMTEST™

Kit components

Components	15-CSC17-10C	15-CSC17-20C
Test card (in trilaminate pouch for protection from light and humidity)	x 10	x 20
Sample diluent (plastic dropper)	1 x 2 ml	1 x 4 ml
Graduated and heparinized capillaries	x 10	x 20
Instructions for use	x 1	x 1

Materials needed but not provided

- Timer.
- Micropipette and disposable tips (for serum, plasma, and blood).
- Lancets or needles (for capillary blood).
- Gauze and disinfectant.

Storage and expiration

Store at room temperature between 15 and 25°C.
Transport temperature: 15 to 25°C.
Shelf life: 12 months.

Warnings

- 1- Carefully read and strictly follow all instructions detailed in the manual included in the kit.
- 2- Store the kit and all reagents at room temperature (15-25°C).
- 3- Keep the test card in their original packaging with the silica packets and hermetically sealed to protect them from light and moisture.
- 4- Remove the test card from its pouch only immediately before using it.
- 5- Handle all materials and reagents according to the Good Laboratory Practices.
- 6- Serum, plasma and blood samples should be considered potentially infectious and, therefore, the kit components that contact them should be handled with gloves and disposed as pathological waste according to legal regulations. The rest of the kit components does not represent any potential risk for health and the environment.
- 7- Do not use the kit beyond expiration date or if the kit components were not kept in the conditions indicated above.
- 8- Do not mix components or instruction manuals from different test kits batches.
- 9- Proper storage of the kit and all reagents will allow the use until the expiration date.

Collection and storage of samples

Samples that are contaminated and/or not well conserved can produce erroneous results.

Whole blood obtained by lancet or needle puncture

1. Clean the area to be punctured with a gauze or cotton pad with 70% ethanol.
2. Puncture with a sterile lancet or needle. Use a new lancet/needle for each patient.
3. Touch the drop of blood with the tip of the heparinized capillary and collect up the blood to the second black mark (40 µl) indicated on the capillary tube (see figure 1). Avoid the formation of air bubbles.
4. Analyze immediately after collection.



CHEMTEST™

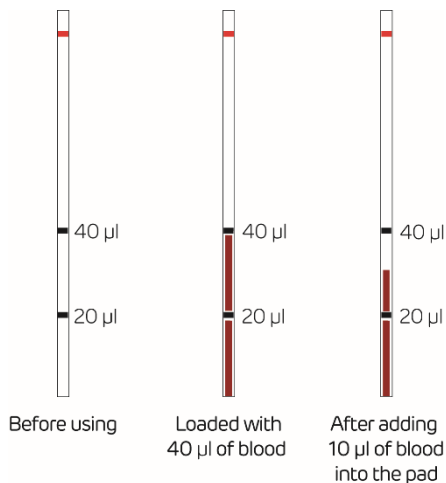


Figure 1: Scheme of the graduated and heparinized capillaries. The red mark indicates that the capillary is coated inside with sodium heparin. Black graduation marks indicate how far the capillary should be loaded to collect 20 µl and 40 µl of blood.

Whole blood obtained by venipuncture

1. Collect the samples by venipuncture in tubes with anticoagulant (heparin or sodium citrate) and mix well to avoid the coagulation of the blood. Do not use EDTA as an anticoagulant.
2. If the samples are not analyzed immediately, they can be stored in a refrigerator (2-8°C) for 1 or 2 days. In these cases, allow the samples to reach room temperature and homogenize well before performing the analysis. Do not freeze whole blood samples.

Plasma

1. Collect blood samples by venipuncture in tubes with anticoagulant (heparin or sodium citrate). Do not use EDTA as an anticoagulant.
2. Obtain the plasma by centrifugation at 3000 rpm for 10 min.
3. If the samples are not analyzed immediately, they can be kept refrigerated (2 to 8 °C) for up to 72 hs. For longer storage, store at -20°C (-15 to -20°C), considering that during storage and because of the freezing and thawing process, the antibody titer may change. If samples are frozen, they must be completely thawed, homogenized, and centrifuged before testing.

Serum

1. Collect the samples by venipuncture in tubes WITHOUT anticoagulant.
2. After blood coagulation (incubate 15 min at 37°C) obtain serum by centrifugation at 3000 rpm for 10 min.
3. If the samples are not analyzed immediately, they can be kept refrigerated (2 to 8 °C) for up to 72 hs. For longer storage, store at -20°C (-15 to -20°C), considering that during storage and because of the freezing and thawing process, the antibody titer may change. If samples are frozen, they must be completely thawed, homogenized, and centrifuged before testing.

Test procedure (see figure 2)

1. Remove the test card from its original packaging and place it on a clean and flat surface.
2. Add the sample and sample diluent to the pad indicated with S.

For whole blood obtained by lancet or needle puncture

-Discharge 10 µl of whole blood onto the test strip by touching the pad (S) with the tip of the preloaded capillary. Wait for the sample to be completely absorbed.

Note: It is recommended to load the capillary to the 40 µl mark and then unload to the middle between the 40 and 20 µl marks (see figure 1).

-Add 3 drops of the Sample diluent on the pad (S) of the reactive strip. Always wait for the volume of diluent added between drops to be absorbed.

For whole blood obtained by venipuncture, serum and plasma



CHEMTEST™

- Add with a micropipette 10 µl of whole blood obtained by venipuncture on the pad (S). Wait for the sample to be completely absorbed.
- Add 3 drops of the Sample Diluent on the pad (S) of the reactive strip. Always wait for absorption of the drop before adding the next one.

3. Wait 10 minutes and read the result.

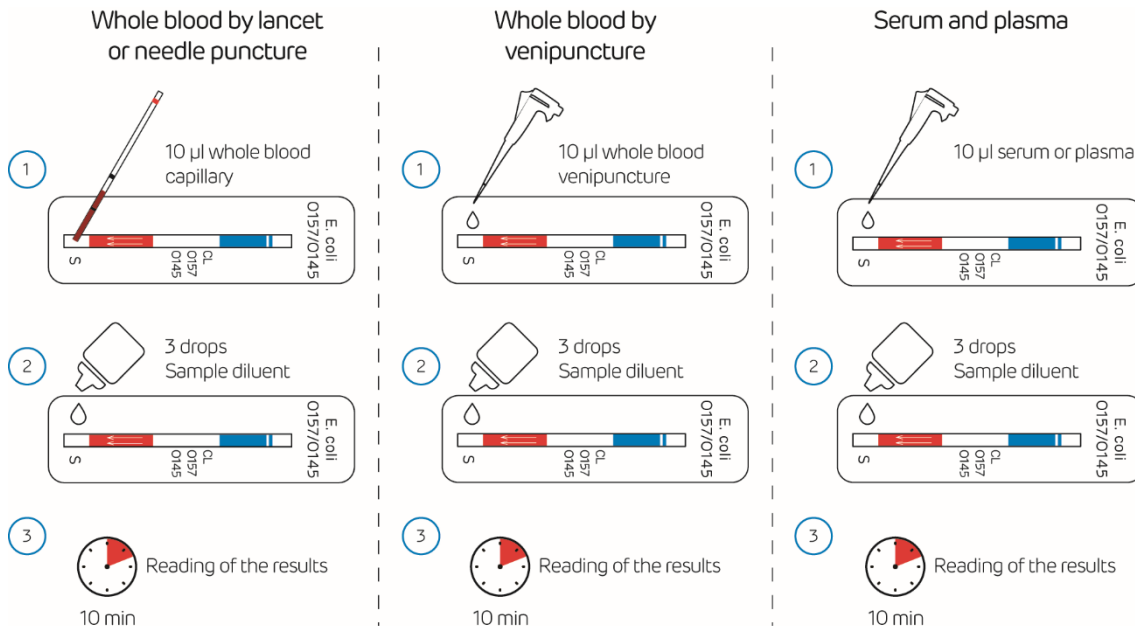


Figure 2: Instructions for the analysis.

Interpretation and validity criteria of the test (see figure 3)

O157 and O145 positive: when three red purple bands are observed. Two corresponding to the O157 and O145 test lines and the other to the control line (CL). Regardless of the color intensity of the test lines the result should be considered positive.

O157 positive and O145 negative: when two red purple bands are observed. One corresponding to the O157 test line and the other to the control line (CL). Regardless of the color intensity of the test line the result should be considered positive.

O157 negative and O145 positive: when two red purple bands are observed. One corresponding to the O145 test line and the other to the control line (CL). Regardless of the color intensity of the test line the result should be considered positive.

O157 and O145 negative: when only one purple band corresponding to the CL is observed.

Invalid: when no bands are observed or only one band or two bands corresponding to the test lines are observed and the LC is not observed. In this case, the test must be repeated strictly following the procedure detailed in the kit's Instruction Manual.



CHEMTEST™

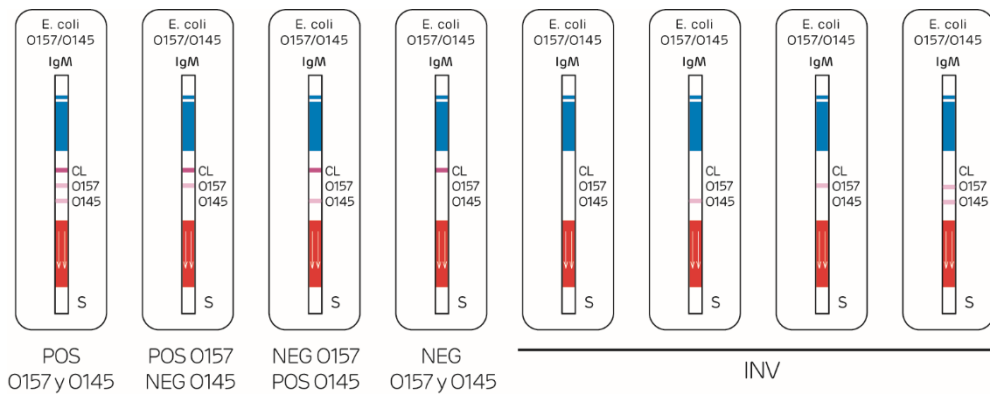


Figure 3: Interpretation of the results. POS, positive; NEG, negative; INV, invalid.

Important: any line that appears after the indicated reading time, will have no diagnostic value.

Performance evaluation

Evaluation of diagnostic sensitivity (Se) and specificity (Sp)

To determine the diagnostic sensitivity and specificity of the CHEMSTRIP® *E. coli* O157/O145 kit, samples obtained from children under 12 years old were analyzed. The panel of positive samples included samples from patients with clinical diagnosis of acute bloody diarrhea (ABD) or Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) and with positive isolation and/or positive serology (assessed using the CHEMLIS® Combi *E. coli* Glyco-iELISA kit) for *E. coli* O157 or O145. The panel of negative samples included samples obtained from healthy children or patients with unrelated pathologies of the same age. Based on these results, the diagnostic sensitivity and specificity parameters were calculated:

	Sensitivity (%)	Specificity (%)
<i>E. coli</i> O157	95.7	97.2
<i>E. coli</i> O145	97.9	100

All samples positive for O157 were negative for O145 and vice versa, demonstrating the serospecificity of the test.

Evaluation of diagnostic performance in early stages of infection

To evaluate the performance of CHEMSTRIP® *E. coli* O157/O145 kit in early stages of the infection, serum samples obtained from patients with HUS or ABD and positive isolation for O157 or O145 were analyzed, and the percentage of detection was calculated at different intervals of time according to the days elapsed between sampling and the onset of symptoms (days post-onset of symptoms, dpos). When the samples obtained before 3 dpos were analyzed, the detection percentage was 80% and after 3 dpos this percentage rose to 100%, demonstrating the usefulness of the kit for the early diagnosis of *E. coli* O157 or O145 infection.

Matrix effect evaluation



CHEMTEST™

The different types of matrices (whole blood and plasma) and anticoagulants (heparin and sodium citrate) evaluated do not affect the test result relative to serum samples.

For technical assistance

For any questions, please contact tel (+54 11) 5353 6066 or through info@chemtest.net / chemtest.net

Referencias / References

-Serogroup-specific bacterial engineered glycoproteins as novel antigenic targets for diagnosis of Shiga toxin-producing Escherichia coli-associated hemolytic uremic syndrome. Luciano J. Melli, Andrés E. Ciocchini, 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.

-Boletín integrado de vigilancia N° 560 SE30 / 2021, páginas 59 a 69. Ministerio de salud, Argentina. ISSN 2422-698X (en línea).