

Prueba Rápida de *Shigella flexneri*

(Heces)
SFA 0723/01
REF DMSGF01

Uso deseado

La prueba rápida de *Shigella flexneri* (heces) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de antígenos de *Shigella flexneri* en heces humanas.

Resumen

La *Shigella flexneri* es un bacilo gramnegativo, cuyo único reservorio es el ser humano. Este patógeno forma parte de una de las cuatro especies de *Shigella*: *dysenteriae*, *flexneri*, *boydii* y *sonnei*, cada una de estas será más predominante que las demás dependiendo de la zona geográfica, sin embargo, *Shigella flexneri* y *Shigella sonnei* suelen ser las más comunes. La vía de transmisión de las shigelas puede ser de persona a persona, por consumo de agua o alimentos contaminados y requiere de una cantidad mínima de estos (100 microorganismos), una vez logra ingresar al reservorio buscará llegar a la mucosa intestinal y, al ser una bacteria invasora alcanzará la submucosa del colon para más tarde generar úlceras en dichos tejidos, también puede producir una enteritis invasiva, la cual, se caracteriza por un dolor abdominal cólico, diarrea y fiebre. El cuadro clínico puede variar, no obstante, los cuadros más graves suelen presentarse en niños menores de 5 años [1,2]. El tratamiento contra este patógeno son los antibióticos, aunque recientemente se ha visto resistencia a ampicilina y cotrimoxazol [3]. El diagnóstico de shigelas puede ser mediante cultivo o prueba rápidas [4].

Principio

La prueba rápida de *Shigella flexneri* para la detección cualitativa de antígenos de *Shigella flexneri* en muestras de heces humanas es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. El cartucho de prueba tiene una membrana con dos regiones: una de prueba (T) y una de control (C). Dicha membrana posee un 'conjugado' conformado por partículas de oro coloidal e impresos anticuerpos de captura 'línea de prueba' y anticuerpos anti-ratón 'línea control'. Una vez que la muestra es depositada en el pozo (S) del cartucho junto con el reactivo de corrimiento, esta migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de antígeno de *Shigella flexneri* por debajo del límite de detección no se formará el complejo antígeno-anticuerpo evitando la aparición de una línea de color en la región de prueba (T), esto indica un **resultado negativo**. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de antígeno de *Shigella flexneri* por encima del límite de detección se formará el complejo antígeno-anticuerpo generando la aparición de una línea de color en la región de prueba (T), esto indica un **resultado positivo**. La prueba incluye un control (C), por lo que, siempre debe de aparecer una línea de color en dicha región, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó exitosamente.

Reactivos

La prueba contiene un conjugado de partículas de oro coloidal, anticuerpos anti-*Shigella flexneri* y anticuerpos anti-ratón.

Precauciones

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos.
- No utilice la prueba después de la fecha de caducidad.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilice la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilice bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en la bolsa sellada, a temperatura ambiente o refrigerada (2-30°C). Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

Almacenamiento de la muestra

- La muestra debe ser recolectada y almacenada en un recipiente estéril, seco e impermeable sin detergentes, conservadores o medios de transporte.
- Almacene la muestra a una temperatura de 2-8 °C durante un máximo de 3 días posterior a su recolección, en caso de necesitar conservarla por más tiempo almacénala a -20 °C.
- Si la muestra debe de ser enviada, empáquela de acuerdo a la regulación federal para la transportación de agentes etiológicos.

Materiales

Materiales incluidos:

- Prueba rápida en cartucho
- Tubo colector con reactivo de corrimiento
- Instructivo de uso

Materiales requeridos, pero no incluidos:

- Temporizador
- Contenedor de muestra (s)

Materiales opcionales:

- Centrifuga
- Gotero para muestras líquidas

Obtención de muestra

Realice los pasos que se describen a continuación:

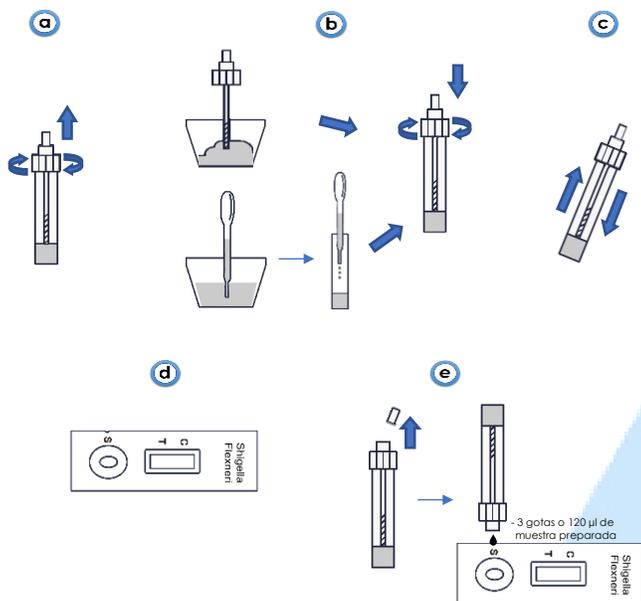
- I. Coloque entre 1-2 mL o 1-2 gramos de heces en un contenedor de recolección que este estéril y seco.

Nota: Para obtener mejores resultados realice el análisis de la muestra antes de las 6 horas posteriores a su recolección.

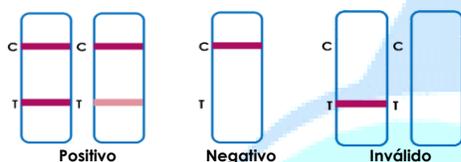
Instrucciones de uso

Deje que la prueba, muestra y reactivo de corrimiento alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de utilizar la prueba. Siga los pasos que se describen a continuación:

- a) Tome el tubo colector y desenrosque la tapa.
- b) **Para muestras sólidas:**
Pinche la muestra con el aplicador del tubo colector de forma aleatoria al menos 3 veces en sitios diferentes hasta recolectar aproximadamente 50 mg de heces (equivalente a ¼ de un chicharo), luego regrese el aplicador al tubo y cierre perfectamente.
Para muestras líquidas:
Con Ayuda de un gotero recolecte 2 gotas de muestra (aproximadamente 80 µl) y transfíralas al tubo colector, cierre el tubo perfectamente.
- c) Una vez obtenida la cantidad de muestra suficiente y haber cerrado el tubo, proceda a agitar vigorosamente el tubo después déjelo reposar por 2 minutos.
- d) Retire la prueba de la bolsa sellada y utilícela inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada.
- e) Quite la tapa del tubo preparado y coloque 3 gotas (aproximadamente 120 µl) en el pozo (S) del cartucho y programe un temporizador por 10 minutos.
Nota: Evite generar burbujas a la hora de depositar la muestra.
- f) Lea el resultado, una vez haya finalizado el temporizador.
Nota: No interprete el resultado después de 20 minutos.



Interpretación de resultados



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO: Aparece una línea de color en la región de prueba (T) y una línea de color en la región control (C). Nota: La intensidad del color en la región de prueba (T) puede variar, por lo que, cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región control (C). No aparece ninguna línea de color en la región de prueba (T).

INVÁLIDO: La línea de color en la región control (C) no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, suelen ser las razones más probables de la falla de dicha línea. Revise el procedimiento y repita la prueba, si el problema persiste deje de usar el cartucho inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. Una línea de color aparece en la región control (C) confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos o negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio.

Limitaciones

1. La prueba rápida de *Shigella flexneri* (heces) es solo para diagnóstico *in vitro*.
2. El resultado de esta prueba solamente es cualitativo.
3. Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible para el médico.
4. Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, realice una prueba con otro método clínico disponible. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección.

Valores esperados

La prueba rápida de *Shigella flexneri* (heces) para la detección cualitativa de antígenos de *Shigella flexneri* en heces humanas fue comparada con una prueba rápida líder de *Shigella flexneri*, se obtuvo una precisión global de 96.7%.

Características de rendimiento

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

Se utilizó la prueba rápida de *Shigella flexneri* (heces) para procesar un total de 60 muestras, de las cuales solo 10 procedían de personas con positivas a *Shigella flexneri*. Los resultados de las 60 muestras fueron confirmados por medio de una prueba líder de *Shigella flexneri*, en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Método	Prueba rápida comercial		Resultados totales	
	Resultados	Positivo		Negativo
Prueba rápida de <i>Shigella flexneri</i> (heces)	Positivo	9	1	10
	Negativo	1	49	50
Resultados totales		10	50	60

Sensibilidad relativa: 90.0% (95% IC: 55.5%-99.8%)

Especificidad relativa: 98.0% (95% IC: 89.4%-99.9%)

Precisión relativa: 96.7% (95% IC: 88.5%-99.6%)

IC: Intervalo de Confianza

Precisión

Intra-Ensayo

La repetibilidad de la prueba fue determinada utilizando 20 réplicas por cada una de las siguientes muestras: una negativa y una positiva. Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Inter-Ensayo

La reproducibilidad de la prueba fue determinada mediante 10 réplicas de 3 lotes diferentes realizados en 2 días para cada una de las siguientes muestras: una negativa y una positiva. Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Sustancias interferentes

Se analizaron las siguientes sustancias utilizando la prueba rápida de *Shigella flexneri*, no se observó ninguna interferencia.

- Ácido oxálico (60 mg/dL)
- Ácido ascórbico (20 mg/dL)
- Bilirrubina (100 mg/dL)
- Aspirina (20 mg/dL)
- Cafeína (40 mg/dL)

Reactividad cruzada

Se analizaron los siguientes microorganismos a una concentración de 1.0E+07 microorganismo/mL con la prueba rápida de *Shigella flexneri* (heces), se realizaron 20 réplicas por cada uno, se incluyó una muestra positiva y negativa a *Shigella flexneri*. Ninguno presentó reactividad cruzada.

- *Clostridium difficile*
- *Candida albicans*
- *Enterococcus faecium*
- *Enterococcus faecalis*
- *H. Pylori*
- *Neisseria gonorrhoea*
- *E. coli*

Referencias

- [1]. Prats, G. & Mirelis, B. GÉNERO *Shigella*: ASPECTOS PRÁCTICOS PARA EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. CCS.
- [2]. González-Torralba, A., Ignacio Alós, J. (2015). Shigelosis, la importancia de la higiene en la prevención. Vol. 33. Núm.3. DOI: 10.1016/j.eimc.2014.11.001
- [3]. B. Shiferaw, S. Solghan, A. Palmer, K. Joyce, E.J. Barzilay, A. Krueger, et al. antimicrobial susceptibility patterns of Shigella isolates in Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet) sites, 2000-2010. Clin Infect Dis, 54 (2012), pp. S458-S463
- [4]. CDC. Diagnosis & Treatment *Shigella*-Shigellosis. Centers for Disease Control and Prevention.

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>
	Almacenar entre 2-30 °C
	No utilizar si el paquete está dañado

	Caducidad
	Número de catálogo
	Número de lote
	No reutilizar