

Combo *Entamoeba histolytica* - *Salmonella typhi*

(Heces)
HTT 0424/01
REF DMESCO1

Uso deseado

El Combo *Entamoeba histolytica* - *Salmonella typhi* (heces) se basa en un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica* y *Salmonella typhi* en muestras de heces humanas.

Resumen

La infección por *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*) se le conoce como amebiasis y puede confundirse con la salmonelosis causada por la *Salmonella entérica serovar Typhi* (*S. typhi*) [1]. La *E. histolytica* es un protozoo que se puede transmitir de persona a persona por vía fecal-oral o por el consumo de un solo quiste (forma resistente), mismo que puede sobrevivir en el agua, suelo húmedo, vegetación y heces según la temperatura ambiental. La infección intestinal por la *E. histolytica* suele ser frecuente en adultos jóvenes y por lo general no se presenta ningún síntoma, a estos casos se le denominan como forma no invasiva. No obstante, esta la forma invasiva y se produce después de un periodo de incubación de dos-cuatro semanas, resultando en una invasión de la mucosa intestinal provocando una diarrea simple con moco y sangre o síndrome disintérico con dolor abdominal aunque también puede evolucionar a una forma crónica u otra con mayores complicaciones [2].

La *S. typhi* es exclusiva del ser humano y es el responsable de causar la fiebre tifoidea. Para el proceso de infección es necesario ingerir agua o alimentos contaminados con este patógeno, posteriormente se multiplicará y buscará pasar al torrente circulatorio. *S. typhi* puede encontrarse en la sangre e intestinos de aquellos enfermos con fiebre tifoidea, mismos que sufren de síntomas como fiebre alta, cansancio, dolor de cabeza, náuseas, dolor abdominal e inclusive la muerte, esto último en los casos más graves [3,4]. El cambio climático y la urbanización contribuyen en el incremento de la carga mundial de la fiebre tifoidea aunque los países en vías de desarrollo siguen siendo los más afectados. Asimismo, este microorganismo ha desarrollado resistencia a ciertos antibióticos, lo que dificulta su tratamiento, es por ello que la vacuna (inyectable o cápsula oral) y el diagnóstico de pacientes portadores capaces de transmitir esta bacteria a otras personas por medio de las heces juega un papel muy importante tanto en el tratamiento como en la prevención contra este patógeno [4].

Principio

El Combo *Entamoeba histolytica* - *Salmonella typhi* para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica* y *Salmonella typhi* en muestras de heces humanas es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. Este combo proporciona dos cartuchos, los cuales contienen una membrana dividida en 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' de ambos cartuchos 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 *E. histolytica* o *S. typhi* 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) de su respectivo cartucho, esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de antígeno *E. histolytica* o *S. typhi* 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) de su respectivo cartucho, esto indica un resultado positivo. Cada cartucho 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

Según el cartucho contendrá un conjugado de partículas de oro coloidal, anticuerpos de captura anti-*E. histolytica* o anti-*S. typhi* 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 (15-30°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

Incluidos:

- Prueba rápida en cartucho para *E. histolytica*
- Prueba rápida en cartucho para *S. typhi*
- Tubo colector con reactivo de corrimiento
- Instructivo de uso
- Gotero

Requeridos, pero no incluidos:

- Temporizador
- Contenedor de muestra (s)

Opcionales:

- Centrifugadora

Obtención de muestra

Realice los pasos que se describen a continuación:

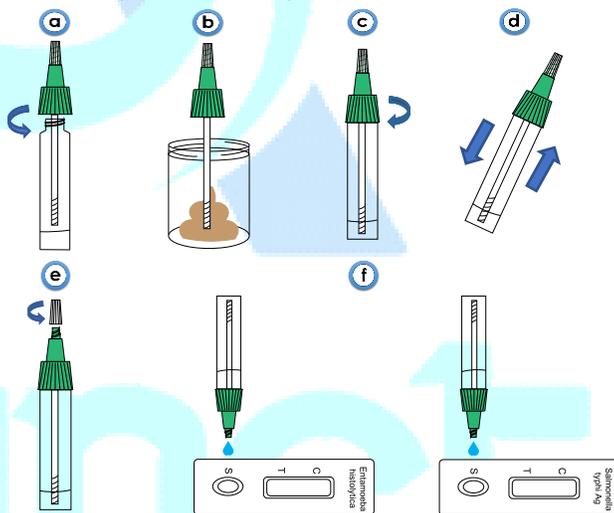
- I. Lave sus manos perfectamente y seque con un paño limpio.
- II. Recolecte la muestra en un contenedor estéril y seco. Una cantidad de entre 1-2 mL o 1-2 gramos de heces será suficiente.
- III. Cierre perfectamente el contenedor, hasta usar la muestra.
Nota: Para obtener mejores resultados realice el análisis de la muestra antes de las 6 horas posteriores a su recolección.

Instrucciones de uso

Permita que los cartuchos, muestra y reactivo de corrimiento alcancen temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar el ensayo. Retire el cartucho de su bolsa sellada y utilícelo inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación según el estado de la muestra:

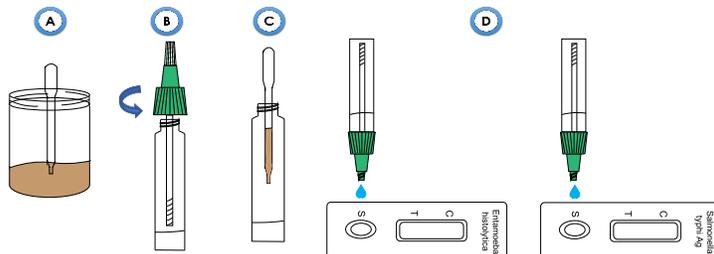
• PARA MUESTRAS SÓLIDAS

- a) Tome el tubo colector y desensaque la tapa.
- b) Pinche la muestra con el aplicador de la tapa del tubo colector, de forma aleatoria por al menos 3 veces en la muestra hasta recolectar aproximadamente 50 mg de heces (equivalente a ¼ de un chicharo).
- c) Una vez obtenida la cantidad de muestra suficiente, regrese la tapa al tubo colector y enrosque la tapa hasta cerrar el tubo perfectamente.
- d) Agite vigorosamente el tubo.
- e) Deje reposar el tubo por dos minutos y después retire la punta de la tapa del tubo colector.
- f) Deposite 2 gotas (aproximadamente 80 µL) de la muestra en el pozo 'S' de cada cartucho y programe un temporizador por 5 minutos.
Nota: Si después de depositar la muestra en cada pozo 'S' no se visualiza su migración sobre la tira del cartucho, debe centrifugar la muestra con todo y solución, después repita el paso f nuevamente.
- g) Lea el resultado, una vez haya finalizado el temporizador.
Nota: No interprete el resultado después de 10 minutos.

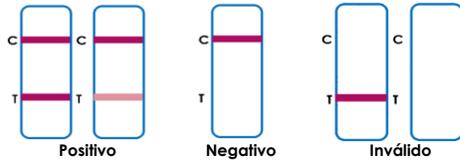


• PARA MUESTRAS LÍQUIDAS

- A. Con ayuda de un gotero, sosténgalo de forma vertical con la punta apuntando a la muestra fecal, apriete el bulbo y recolecte la muestra.
- B. Tome el tubo colector y desensaque la tapa.
- C. Transfiera 2 gotas de la muestra (aproximadamente 80 µL) al tubo colector con reactivo de corrimiento y ciérrelo perfectamente.
- D. Desensaque la punta de la tapa del tubo de corrimiento y agregue 2 gotas (aproximadamente 80 µL) de la muestra en el pozo 'S' de cada cartucho y programe un temporizador por 5 minutos.
- E. Lea el resultado, una vez haya finalizado el temporizador.
Nota: No interprete el resultado después de 10 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 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 la línea de control. 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. El Combo *Entamoeba histolytica* - *Salmonella typhi* (heces) es solo para diagnóstico *in vitro*.
2. El resultado proporcionado 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

El Combo *Entamoeba histolytica* - *Salmonella typhi* (heces) para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica* y *Salmonella typhi* en muestras de heces humanas fue comparada con una prueba comercial para *E. histolytica* y otra para *S. typhi* teniendo una precisión del 97%.

Características de rendimiento

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

• *E. histolytica*

Se utilizó la prueba rápida en cartucho para *E. histolytica* (heces) para procesar un total de 142 muestras, de las cuales solo 24 procedían de personas con síntomas relacionados a una infección por *E. histolytica*. Los resultados de las 142 muestras fueron confirmados por medio de una prueba líder de *E. histolytica* disponible en el mercado, en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

MÉTODO	Prueba comercial			Total
	Resultados	Positivo	Negativo	
Prueba rápida en cartucho para <i>E. histolytica</i> (heces)	Positivo	22	1	23
	Negativo	1	118	119
	Total	23	119	142

Sensibilidad relativa: 95.70% (95% IC: 90.93%-97.97%)

Especificidad relativa: 99.20% (95% IC: 95.90%-99.83%)

Precisión relativa: 98.60% (95% IC: 95.01%-99.61%)

IC: Intervalo de Confianza

• *S. typhi*

Se utilizó la prueba rápida de *Salmonella typhi* para evaluar un total de 179 muestras provenientes de individuos con síntomas y libres de *S. typhi*, los resultados fueron confirmados por medio otra prueba rápida comercial, a continuación se presentan los resultados de la comparación de ambos métodos:

MÉTODO	Prueba rápida comercial			Total
	Resultados	Positivo	Negativo	
Prueba rápida en cartucho para <i>S. typhi</i> (heces)	Positivo	51	1	52
	Negativo	2	125	127
	Total	53	126	179

Sensibilidad relativa: 96.23% (95% IC: 92.33%-98.18%)

Especificidad relativa: 99.21% (95% IC: 96.52%-99.82%)

Precisión relativa: 98.32% (95% IC: 95.19%-99.43%)

IC: Intervalo de Confianza

Precisión Intra-Ensayo

La repetibilidad de cada prueba fue determinada utilizando 20 réplicas por cada una de las siguientes muestras: una negativa, tres positivas (baja, media y alta). Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Inter-Ensayo

La reproducibilidad de cada prueba fue determinada mediante 10 réplicas de 3 lotes diferentes realizados en 2 días para cada una de las siguientes muestras: una negativa, tres positivas (baja, media y alta). Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Reactividad cruzada

Se analizaron los siguientes patógenos gastrointestinales con el Combo *Entamoeba histolytica* - *Salmonella typhi* (heces), se realizaron 20 réplicas por cada uno, se incluyó una muestra positiva y negativa. Ninguno presentó reactividad cruzada.

- *Campylobacter coli*
- *Campylobacter jejuni*
- *Escherichia coli* O157:H7
- *Helicobacter pylori*
- *Salmonella enteritidis*
- *Salmonella paratyphi*
- *Salmonella typhimurium*
- *Giardia Lamblia*
- *Clostridium difficile*
- *Staphylococcus aureus*
- *Yersinia enterocolitica*
- *Leishmania monocytogenes*

Referencias

- [1]. Chelsea, M. (2022). Amebiasis. Manual MSD.
- [2]. INSST. (2022). *Entamoeba histolytica*.
- [3]. ACHIPIA. (2017). *Salmonella enterica* serovar Typhi (*S. Typhi*).
- [4]. Organización Mundial de la Salud. (2023). Fiebre tifoidea. Fact sheets.

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>
	Almacenar entre 15 – 30 °C
	No utilizar si el paquete está dañado
UPI	Uso para investigación

	Caducidad
REF	Número de catálogo
LOT	Número de lote
	No reutilizar

