

Prueba Rápida de *Shigella flexneri*

(Heces)

SFA 0725/01

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 muestras de 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. La prueba consta de un cartucho, el cual contiene una membrana dividida en dos regiones: una de prueba 'T' que tiene impreso anticuerpos anti-*Shigella flexneri* y una de control 'C' impreso con anti-ratón. La membrana también posee un conjugado conformado por partículas de oro coloidal recubiertas con anticuerpos anti-*Shigella flexneri*. Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' del cartucho con la solución de corrimiento, esta reaccionará con el conjugado y migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de antígenos de *Shigella flexneri* por debajo del límite de detección no se formará una línea de color en la región 'T', esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de antígenos de *Shigella flexneri* mayores al límite de detección se formará una línea de color en la región 'T', esto indica un resultado positivo. La prueba tiene un control 'región C', donde siempre debe de aparecer una línea de color, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó exitosamente.

Reactivos

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

Precauciones

Lea toda la información de este instructivo antes de realizar la prueba:

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipular todas las muestras como si tuvieran agentes infecciosos.
- No utilizar la prueba después de la fecha de caducidad.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilizar la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilizar bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones aplicables.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- No mezclar componentes de diferentes lotes.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en su 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.

Materiales

Suministrados:

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

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador
- Contenedor para recolección de muestras

Opcionales:

- Centrifugadora

Recolección de muestra

Realice los pasos que se describen a continuación:

1. Coloque entre 1-2 mL o 1-2 gramos de heces (equivalente al tamaño de una nuez) en un contenedor de recolección de muestras que esté estéril y seco.
Nota: Para obtener mejores resultados realice el análisis de la muestra dentro de las 6 horas posteriores a su recolección.

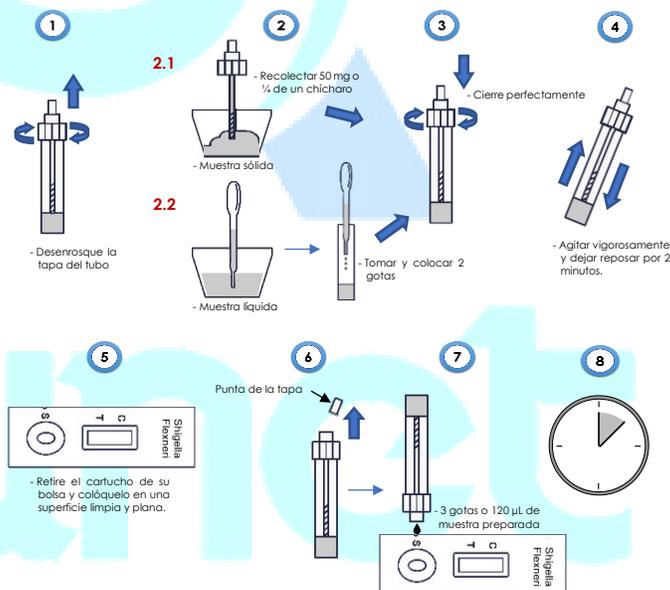
Almacenamiento y estabilidad de la muestra

- La muestra debe ser recolectada y almacenada en un recipiente estéril, seco e impermeable sin detergentes, conservadores o medios de transporte.
- No dejar las muestras a temperatura ambiente durante más de 3 horas.
- La muestra almacenarse por máximo 3 días a una temperatura de 2-8 °C.
- Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben de almacenarse por debajo de los -20 °C.
- Si las muestras deben enviarse, deben empaquetarse de acuerdo con las regulaciones locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

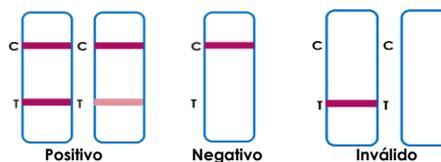
Instrucciones de uso

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

1. Tome el tubo colector y desenrosque la tapa.
2. Realice en función de la disponibilidad del tipo de muestra.
2.1 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).
2.2 Para muestras líquidas:
Con ayuda de un gotero recolecte 2 gotas de muestra (aproximadamente 80 µL) y transfíralas al tubo colector.
3. Una vez colocada la muestra en el tubo, ciérrelo perfectamente.
4. Proceda a agitar el tubo vigorosamente y después déjelo reposar por 2 minutos.
5. Retire la prueba de la bolsa sellada y utilícela inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada.
6. Desenrosque la punta de la tapa del tubo preparado.
7. Quite la tapa del tubo preparado y coloque 3 gotas (aproximadamente 120 µL) en el pozo (S) del cartucho.
8. Inicie un temporizador e interprete el resultado a los 10 minutos. No interprete el resultado después de los 20 minutos.
Nota 1: Evite generar burbujas a la hora de depositar la muestra.



Interpretación de resultados



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO: Aparece una línea de color en la región C y otra línea de color en la región T. Nota: La intensidad del color de la línea en la región 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 C. No aparece ninguna línea de color en la región T.

INVÁLIDO: La línea de la región 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 C confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos ni negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

Limitaciones

1. Como con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben considerarse con otra información clínica disponible para el médico.
2. Si el resultado de la prueba es deficiente y la sintomatología persiste, se sugieren pruebas de seguimiento adicionales con otros métodos clínicos.
3. La prueba rápida de *Shigella flexneri* (heces) es solo para diagnóstico in vitro.
4. El resultado de esta prueba solamente es cualitativo.
5. Es posible que los errores técnicos o de procedimiento, así como otras sustancias que interfieran en la muestra de sangre, provoquen resultados erróneos.

Valores esperados

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

Características de desempeño

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

Se utilizó la prueba rápida de *Shigella flexneri* 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 comercial		Resultados totales
	Positivo	Negativo	
Prueba rápida de <i>Shigella flexneri</i>	Positivo	9	10
	Negativo	1	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)
- Biliirubina (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 in vitro
	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