

TOXINA A / B

Método Inmunocromatográfico rápido en muestra de deposiciones

Catálogo

703070

Presentación

20 det.

Resumen

El *Clostridium difficile* es la causa principal de las diarreas asociadas a los antibióticos y a la colitis pseudo-membranosa. Actualmente es uno de los patógenos más comúnmente detectados y una causa importante de infecciones nosocomiales de los hospitales y guarderías.

El microorganismo ha sido aislado de distintos hábitat naturales: suelos, heno, arena, estiércol de varios mamíferos grandes (vacas, burros y caballos) y de perros, gatos, roedores y humanos. El *C. Difficile* produce por lo menos 3 factores potencialmente virulentos, de los cuales la Toxina A y la Toxina B se cree que son las más importantes en las patogénesis de enfermedades asociadas a *C. Difficile*.

La Toxina A es una entero toxina que parece interferir con el citoesqueleto de las células del epitelio intestinal haciéndolas no-funcionales, mientras que la Toxina B es una cito toxina que induce fuertes efectos citopáticos en las células de cultivo de tejidos.

Ya que no todas las cepas de *C. Difficile* producen toxinas y aproximadamente un 2% de adultos saludables como también hasta un 50% de niños menores de 2 años pueden estar colonizados con *C. Difficile*, la detección de las toxinas (A y B) en muestras de deposición de los pacientes con diarrea es más significativa que un cultivo de bacterias.

El presente test es una prueba inmunocromatográfica de flujo lateral rápida, simple y altamente sensible para la detección confiable de los antígenos de la Toxina A y de la Toxina B del *Clostridium difficile* en deposiciones humanas.

Principio

La placa test consiste en una envoltura plástica que contiene dos barras diferentes para la detección de Toxina A del *C. difficile* o Toxina B del *C. difficile*. Un anticuerpo monoclonal coloreado, contra Toxina A o B, conjugado a oro coloidal va colocado en el borde izquierdo de la membrana.

Después de la recolección en un tubo que contiene la solución de extracción, la muestra de deposición se disuelve y unas pocas gotas de este extracto se colocan en la celda de muestra del sistema de reacción. A medida que la muestra fluye a través del adsorbente, el conjugado anticuerpo marcado con colorante se une al antígeno de la Toxina A o de la Toxina B (si está presente en la muestra), formando un complejo antígeno-anticuerpo.

Este complejo se une al anticuerpo policlonal anti-Toxina A o anti-Toxina B en la ventana de Reacción Positiva (T) y produciendo una o dos bandas de color rosado.

En ausencia de la Toxina A o de Toxina B, no se producen líneas en la zona (T), continuando el flujo de la mezcla a través del absorbente hasta alcanzar la ventana Control (C).

El conjugado no unido se une al reactivo en la zona de control produciendo una banda de color rosada (lo cual indica un correcto funcionamiento de los reactivos).

Composición del Kit

- 20 bolsas metalizadas selladas que contienen un sistema de reacción (marcado con anti-Toxina A y Anti-toxina B).

Estabilidad: El test es estable, hasta la fecha de expiración, a (4 - 30) °C. Si la temperatura excede los 37 °C, se recomienda refrigerar. ¡¡ NO CONGELAR!!

- 20 Tubos plásticos con 2 ml de sol. extractora

- 20 Pipetas plásticas desechables.

- 20 Aplicadores de muestra (palitos de madera)

Precauciones

- Este test está diseñado para uso de diagnóstico *in vitro* y por un profesional solamente

- Leer cuidadosamente las instrucciones antes de usar el test.

- No usar mas allá de la fecha de expiración indicada en la etiqueta de la caja.

- No usar pruebas con envoltorio dañado

- Tratar todo el material como si fuese potencialmente peligroso y manejarlo de la misma manera como un agente infeccioso con desinfectantes apropiados o autoclavar a 121°C por lo menos 1 hora.

- No fumar, comer o beber en áreas donde se manejen las muestras o material del kit.

- Usar ropa protectora tales como delantales de laboratorio, guantes desechables o protección a los ojos cuando se están analizando las muestras.

- Evitar cualquier contacto entre las manos y los ojos o nariz durante la recolección y análisis de las muestras.

Recolección y Preparación de la Muestra

1) Notas Preliminares:

- Las muestras se deben recolectar lo más rápido posible después de la aparición de los síntomas.

- Las muestras diluidas se pueden almacenar a 2-8 °C por tres días, lo cual no interfiere con el análisis. Para un almacenamiento más prolongado, se pueden guardar a -20 °C o más.

- No son recomendables muchos congelamientos y descongelamientos de la muestra, ya que causa resultados erróneos.

- No recolectar la muestra en envases que contengan medios de cultivo, preservativos, sueros animales o detergentes, ya que cualquiera de ellos interfiere con el análisis.

2) Procedimiento

- Escribir el nombre del paciente en el tubo plástico que contiene la solución extractora.

- Abrir el tubo y usando el aplicador de la muestra, transferirla (del tamaño de una semilla, en el caso de una muestra sólida. Si la deposición es líquida, transferir 200 µl dentro del tubo)

- Cerrar muy apretado y mezclar la muestra con el diluyente agitando bastante, hasta que la muestra se disuelva.

- Dejar en reposo para que las grandes partículas sedimenten o centrifugar a 500-1000 rpm por 1 minuto.

Procedimiento

- Llevar las muestras y reactivos a temperatura ambiente. Sacar el sistema test de la bolsa metalizada. Abrir el tubo plástico que contiene la muestra.

- Usando la pipeta plástica, transferir 6 gotas (200 µl) del extracto a la cada celda de muestra.

- Leer el resultado a los 15' después de adicionar la muestra a la celda.

Interpretación de los resultados

Positivo: se observan una banda de color Rosado en la ventana **C** y una o dos en la **T**.

Negativo: aparece una sola banda de color Rosado en la ventana **C** y ninguna en la zona **T**. Además, esto significa una correcta ejecución de la técnica.

MD – 320003 m4c

Revised: 2013/01

Fabricado por Veda Lab en la CE para Inmunodiagnost

Inmunodiagnóstico

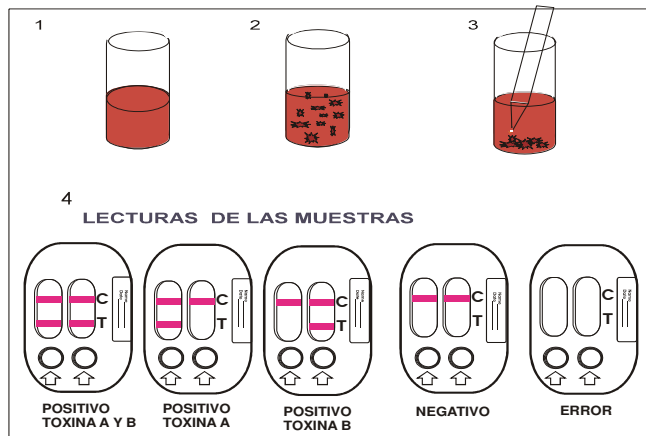
TOXINA A / B

Método Inmunocromatográfico rápido en muestra de deposiciones

Catálogo
703070

Presentación
20 det.

Error: Si no aparece ninguna banda de color en la zona de Control, el test debe considerarse nulo; ya sea por error o por deterioro del mismo. En este caso el ensayo se debe repetir.



Características de la realización

I Toxina A del *C. Difficile* :

--- Sensibilidad del análisis

El rendimiento del test ha sido analizado usando un rango de diluciones de una solución preparada a partir de un antígeno purificado de la Toxina A, comercialmente disponible. El test es capaz de detectar una concentración de hasta **4 ng/ml**.

--- Sensibilidad y especificidad diagnóstica

Se realizó un estudio con 63 muestras de deposiciones, usando el test actual en comparación con los métodos de Citotoxicidad y de Cultivo de células. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

CITOTOXICIDAD	TEST TOXINA A		TOTAL
	+	-	
+	13	2	15
-	4	44	48
TOTAL	17	46	63

Todas las muestras mostraron idénticos resultados usando los métodos de Citotoxicidad y Cultivo de células.

A partir de la tabla anterior, podemos deducir que: la Sensibilidad del presente test para Toxina A es de un 86,7 % (13/15) comparado con el método de Citotoxicidad y la Especificidad es de un 91,7 % (44/48) comparada con el método de citotoxicidad.

--- Reacción cruzada

El test para Toxina A mostró resultados consistentemente negativos hasta una concentración de 500 ng/ml de Toxina B.

II Toxina B del *C. Difficile* :

---Sensibilidad del análisis

La Sensibilidad del test ha sido evaluada usando un rango de diluciones de una solución preparada a partir de un antígeno purificado C.D. de la Toxina B, comercialmente disponible. El test es capaz de detectar una concentración de hasta **5 ng/ml**.

--- Reacción cruzada

El test para Toxina B mostró resultados consistentemente negativos hasta una concentración de 500 ng/ml de Toxina A.

Limitaciones

- Este test está diseñado para detectar solo Toxina A y/ o Toxina B en heces.
- El médico debe confirmar este test con otros métodos clínicos.

- Un resultado negativo no excluye una infección por *C. Difficile* ya que el almacenamiento de la muestra puede haber sido inapropiado (La Toxina puede haber sufrido una digestión proteolítica). En este caso, repetir con otra muestra fresca.

- Un resultado positivo no excluye la presencia de otros patógenos.

- La presencia de sangre en la muestra en cantidades significativas, puede interferir, dando resultados falso positivo.

- En algunos casos, las bandas podrían mostrar otros colores distintos al rosado debido a muestras de deposiciones coloreadas (Ej.: verde oscuro en muestras verdes u oscuras), lo cual no interfiere en la interpretación del test. (Ej: en casos de tratamiento de deficiencia de hierro con fumarato ferroso). El resultado del test se debe interpretar como lo habitual, es decir, 2 líneas para un resultado positivo y una línea, para uno negativo.

Bibliografía

- Lierly, D.M. et al. 1988 . Clin. Microbiol. Rev. 1: 1-18.
- Mulligan, M.E. et al. 1988 J. Clin. Microbiol, 26 : 46-31
- Gilligan, P.H. et al. 1981. J. Clin. Microbiol. 14 : 26 – 31
- George, W.L. 1989 : Anaerobic Infections in human. Academic Press, Inc. NY. 661-678
- Sullivan, N.M.S. et al. 1982. Infect. Immun., 35: 1032-1040.
- Lierly, D.M. et al. 1982. Infect. Immun. 35 : 1147 - 1150