# SHIGA TOXIN QUIK CHEKTM - ESPAÑOL

#### USO PREVISTO

La prueba SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ es un inmunoensayo enzimático rápido de membrana para la detección cualitativa simultánea y la diferenciación de la toxina Shiga 1 (Stx1) y la toxina Shiga 2 (Stx2) en un único dispositivo de prueba. Está pensadas para uso con muestras fecales humanas de pacientes con síntomas gastrointestinales para ayudar en el diagnóstico de enfermedades causadas por Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC). Puede emplearse con muestras fecales o cultivos en caldo o placa obtenidos de muestras fecales. Los resultados de las pruebas deben evaluarse junto con la historia clínica del paciente.

Precaución: La Ley Federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo o bajo prescripción médica.

#### **FUNDAMENTO**

El Escherichia coli productor de toxina Shiga (STEC) fue descrito por primera vez por O' Brien, et.al. después de descubrir que el sobrenadante del cultivo de E. coli, que era citotóxico para las células HeLa y Vero, podía neutralizarse con anticuerpos de conejo frente a la toxina Shiga (1). El STEC causa a nivel mundial enfermedades diarreicas transmitidas por la alimentación y por el agua que, si no se diagnostican, pueden conducir a colitis hemorrágica y/o síndrome hemolítico urémico (SHU) (2, 3). Como determinados tratamientos y medicamentos pueden aumentar el riesgo de SHU (4), la detección precoz es necesaria para prevenir los brotes y la transmisión secundaria (5-9). La cepa O157:H7 de STEC ha sido históricamente el foco de atención en Estados Unidos desde que se aisló por primera vez en hamburguesas poco hechas (3, 10), y causa un número estimado de 73.000 enfermedades al año (11). Sin embargo, las infecciones por STEC causadas por cepas distintas de O157 se han hecho más prevalentes en los últimos años, tanto en Estados Unidos como fuera (12-16, 28). Las infecciones por O157:H7 se diagnostican rutinariamente mediante cultivo de muestras fecales en medios selectivos (17,18), pero esta metodología permite que las cepas de STEC distintas de O157 no se detecten. Los STEC producen una o ambas toxinas Shiga (Stx1 y/o Stx2), ambas potentes citotoxinas (19, 20). A los aislados que producen sólo Stx2 se les han atribuido tasas de incidencia mayores de SHU (18, 21-23). Las toxinas Shiga pueden detectarse mediante ensayos de cultivo tisular (24), pero este método consume mucho tiempo y trabajo. Al detectar las toxinas, la prueba SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ puede detectar STEC presentes en muestras fecales o cultivos, independientemente del serotipo y otros factores de virulencia

#### PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ emplea anticuerpos específicos frente a Stx1 y Stx2. El Dispositivo de membrana contiene una Ventana de reacción con tres líneas verticales de anticuerpos inmovilizados. La línea de prueba "1" contiene anticuerpos monoclonales frente a Stx1. La línea de control ("C") es una línea de puntos que contiene anticuerpos anti-peroxidasa de rábano picante (HRP). La línea de prueba "2" contiene anticuerpos monoclonales frente a Stx2. El Conjugado contiene anticuerpos frente a Stx1 v Stx2 unidos a peroxidasa de rábano picante. Para realizar el test, la muestra se añade a un tubo que contiene una mezcla de Diluyente y Conjugado. La mezcla muestraconjugado diluida se añade al Pocillo de muestra y el dispositivo se incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos. Durante la incubación, cualquier Stx1 y/o Stx2 presente en la muestra se une a los conjugados anticuerpo-peroxidasa. Los complejos toxinaanticuerpo-peroxidasa migran a través de un filtro almohadillado a una membrana y los captan los anticuerpos monoclonales específicos de Stx1 y Stx2 en las líneas de la prueba. A continuación, se lava la Ventana de reacción con Tampón de lavado, seguido por la adición de Sustrato. Después de un período de incubación de 10 minutos, se examina visualmente la Ventana de reacción en busca de la aparición de líneas azules verticales en

> Dr. ALEJANDRO F. CELIA DIRECTOR TECNICO

M:N: ±8933

los lados "1" y "2" de la Ventana de reacción. Una línea azul en el lado "1" de la Ventana de reacción es un resultado positivo que indica la presencia de Stx1. Una línea azul en el lado "2" de la Ventana de Reacción es un resultado positivo que indica la presencia de Stx2. Una reacción positiva "C", indicada por una línea azul de puntos vertical bajo la parte "C" de la Ventana de reacción, confirma que el test funciona adecuadamente, que se siguió el procedimiento y que los resultados son válidos.

#### MATERIALES SUMINISTRADOS

MEM | DEV | Dispositivos de membrana - cada bolsa contiene 1 dispositivo ISPE Diluyente (22 ml) - Solución tamponada proteínica con cuentagotas

graduado\*

WASHIREAG Tampón de lavado (12 ml) - Solución tamponada con cuentagotas graduado\*

SUBS REAG Sustrato (3,5 ml) - Solución con tetrametilbenzidina

CONJ ENZ Conjugado (2,5 ml) - Anticuerpos específicos de Stx1 y Stx2 unidos a

peroxidasa de rábano picante, en una solución tamponada proteínica\*

CONTROLI+ Control positivo (1 ml) - Antígeno en una solución tamponada de proteínas\*

Pipetas de plástico desechables – graduadas a 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl у

IVD Dispositivo médico para diagnóstico in vitro

\*contiene ProClin® 300 al 0,05% Palabra de advertencia: Advertencia

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

### MATERIALES Y EQUIPAMIENTO NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Tubos de ensayo pequeños (p. ej., tubos de plástico Eppendorf o tubos de vidrio) Palillos o torundas aplicadores Cronómetro Mezclador de tipo vórtex Guantes desechables para manipular las muestras fecales Pipeta y puntas de pipeta

## PERÍODO DE VALIDEZ Y CONSERVACIÓN

La fecha de caducidad del kit se indica en la etiqueta. Las fechas de caducidad de los componentes se indican en sus correspondientes etiquetas. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2°C y 8°C. El kit con los reactivos con un período de validez designado debe conservarse a una temperatura entre 2° y 8°C y debe volver a colocarse en el refrigerador lo antes posible después de su uso.

#### **PRECAUCIONES**

- Rx Only Solo con receta
- Cada componente del kit debe inspeccionarse por si existe algún signo de fugas. A su recepción se inspeccionará el kit para comprobar que los componentes no están congelados ni calientes al tacto debido a condiciones de envío inadecuadas.
- El reactivo Sustrato debe ser incoloro. Si el reactivo Sustrato adquiere un color azul oscuro/violeta, deseche y avise al Servicio técnico para su sustitución.
- 4. No deben mezclarse ni intercambiarse reactivos de kits diferentes. No utilizar los kits después de su fecha de caducidad.
- ¡Los tapones, las puntas y los cuentagotas están codificados con colores y NO deben mezclarse!
- ¡ANTES DEL USO deje que todos los componentes alcancen la TEMPERATURA
- No congele los reactivos. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2 y 8 °C.
- 8. La bolsa que contiene el Dispositivo de Membrana debe estar a temperatura ambiente antes de abrirse. Mantenga secos los dispositivos de membrana antes de su uso.
- 9. Cuando añada los reactivos, sujete los frascos de los reactivos en posición vertical con el fin de asegurar que el tamaño de las gotas sea consistente y el volumen sea correcto.

ABORTEKNIC S.R.L. Dr. ALEJANDRO F. CELIA DIRECTOR TECNICO

M.N. 10933

- 10. La contaminación microbiana de los reactivos puede afectar a la precisión del análisis. Evite la contaminación microbiológica de los reactivos utilizando pipetas estériles desechables para extraer partes alícuotas de los frascos de reactivos.
- 11. Los dispositivos de membrana no pueden volver a utilizarse.
- 12. La prueba se ha optimizado para mejorar la sensibilidad y la especificidad. Las alteraciones del procedimiento especificado y/o de las condiciones de la prueba pueden afectar a su sensibilidad y especificidad. No se desvíe del procedimiento especificado.
- 13. La validez de los resultados al usar el test SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ depende de la reacción adecuada de los controles internos y externos. Véase la sección de Control de Calidad.
- 14. Las muestras y los dispositivos de membrana deben manipularse y eliminarse después del uso como materiales biológicos potencialmente peligrosos. Utilice guantes desechables para realizar la prueba.
- 15. Las muestras fecales pueden contener agentes potencialmente infecciosos y deben manejarse en un "Nivel de Bioseguridad 2", tal como se recomienda en el Manual de los CDC/NIH, "Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos".
- 16. Los reactivos contienen ProClin® 300 al 0,05% como conservante. Aunque la concentración es baja, se sabe que ProClin® 300 es nocivo. En caso de irritación o erupción cutánea, consultar a un médico. En caso de irritación o erupción cutánea, consultar a un médico. Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. Manejar los reactivos de acuerdo con las normas existentes de seguridad de laboratorio y buenas prácticas de laboratorio. Se dispone de fichas de datos de seguridad de este producto bajo pedido, consultar al soporte técnico.
- 17. Siga las normas nacionales, regionales y locales para consultar los reglamentos de eliminación de residuos.

RECOGIDA, MANIPULACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS FECALES Las directrices de los CDC para las pruebas diagnósticas de STEC recomiendan realizar las pruebas en las muestras en cuanto sean recibidas por el laboratorio.

Tipos	de	muestra	aceptables	

Muestras fecales recientes

Muestras en medios de transporte (p. ej., Cary Blair, C&S)

Muestras fecales congeladas (congeladas sin diluir o congeladas en medios para transporte)

Cultivos para gramnegativos o en caldo de MacConkey a partir de un tipo de muestra aceptable

Cultivos bacterianos a partir de una placa de SMAC, CT-SMAC o CHROMagar® 0157, cultivados a partir de cualquier tipo de muestra aceptable

## No utilizar

Muestras fecales con fijación basada en formol (p. ej., formol acetato sódico, formol al 10%)

Muestras fecales en fijación basada en alcohol (p. ej., alcohol polivinílico)

## 1. Manipulación de muestras para pruebas fecales directas -

- a. Las muestras frescas deben estudiarse lo antes posible después de su recepción. Si no pueden realizarse las pruebas al recibirlas, las muestras pueden conservarse entre 2° y 8°C o congeladas (≤ -10°C) durante hasta 14 días desde el momento de la recepción de la muestra.
- b. Las muestras en medios de transporte (C&S o Cary Blair) pueden conservarse entre 2° y 8°C o congeladas (≤ -10°C) durante hasta 14 días desde el momento de la recepción de la muestra.

- 2. Manipulación de muestras para el método de caldo o placa
  - a. Las muestras deben conservarse a una temperatura entre 2° y 8°C y cultivarse cuanto antes después de su recepción. Si no pueden comenzarse los cultivos en el plazo de 2 horas desde la recepción, las muestras pueden congelarse (≤ -10°C) durante hasta 14 días desde el momento de la recepción de la muestra.
  - Las muestras en medios de transporte (C&S o Cary Blair) pueden conservarse entre 2° y 8°C durante hasta 5 días.
- Debe comprobar que las muestras estén completamente mezcladas antes de realizar el análisis.
- Deben evitarse los ciclos repetidos de congelación/descongelación. Si se utilizan muestras congeladas, descongele a temperatura ambiente.
- 5. NO se recomienda conservar las muestras fecales en el Diluyente.
- No permita que las muestras permanezcan en la mezcla Diluyente/Conjugado durante más de dos horas.

## PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

- A. Pruebas directas en muestras fecales (en muestras frescas y muestras en medios de transporte)
  - Mezcle bien todas las muestras independientemente de su consistencia ya que es muy importante obtener una suspensión homogénea de las muestras antes de tomar las muestras.
  - 2. Continúe con el PROCEDIMIENTO DE PRUEBA.
- B. Método de caldo (en muestras frescas y muestras en medios de transporte)
  - Mezcle bien todas las muestras independientemente de su consistencia ya que es muy importante obtener una suspensión homogénea de las muestras antes de inocular el caldo.
    - Muestras liquidas/semisólidas transferir 25 µl de muestra a un tubo de cultivo con 5 ml de caldo MacConkey o 8 ml de caldo para gramnegativos (GN).
    - b. Muestras formadas/sólidas transfiera una pequeña porción (aproximadamente 2 mm de diámetro, el equivalente de 25 µl) de la muestra a un tubo de cultivo con 5 ml de caldo MacConkey u 8 ml de caldo GN.
    - c. Muestras fecales en medios de transporte Cary Blair o C&S transfiera 100 µl de la muestra conservada a un tubo de cultivo con 5 ml de caldo MacConkey u 8 ml de caldo GN.
  - Ponga el tapón sin apretar en los tubos de caldo inoculados e incube durante 16-24 horas entre 35° y 39°C.
  - 3. Examine el tubo para ver si hay crecimiento. Si no hay crecimiento, no continúe con la prueba. En lugar de ello, inocule otro tubo de caldo con la misma muestra fecal o una muestra reciente del mismo paciente. De forma alternativa, pueden usarse el método de placa selectivo (véase "C" a continuación) o el método de prueba de muestras fecales directas (véase "A" más arriba).
  - 4. Continúe con el PROCEDIMIENTO DE PRUEBA.
- C. Método de placa (en muestras frescas y muestras en medios de transporte)
  - Mezcle bien todas las muestras independientemente de su consistencia ya que es muy importante obtener una suspensión homogénea de las muestras antes de inocular la placa. Utilice una torunda para tomar muestras del material y extiéndalo en una placa SMAC, CT-SMAC o CHROMagar<sup>®</sup> O157. NOTA: las placas CT-SMAC y CHROMagar<sup>®</sup> O157 son más selectivas que las placas SMAC y pueden inhibir el crecimiento de STEC no O157.
  - 2. Incube las placas durante 16-24 horas entre 35°C y 39°C.
  - 3. Examine la placa para ver si hay crecimiento. Si no hay crecimiento, no continúe con la prueba. En lugar de ello, inocule otra placa con la misma muestra fecal o una muestra reciente del mismo paciente. De forma alternativa, pueden usarse el método de caldo (véase "B" más arriba) o el método de prueba de muestras fecales directas (véase "A" más arriba).
  - 4. Continúe con el PROCEDIMIENTO DE PRUEBA.

## PROCEDIMIENTO DEL TEST

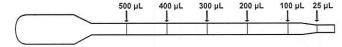
- Espere hasta que todos los reactivos y el número de dispositivos necesarios estén a temperatura ambiente antes de su uso.
- Asigne e identifique un tubo de ensayo pequeño para cada muestra así como controles externos opcionales según sea necesario.
- Añada Diluyente a cada tubo usando el cuentagotas graduado negro.

Tipo de muestra	Volumen de Diluyente	
Muestra fecal (no conservada) Cultivo de placa Controles externos	750 µl (2ª graduación desde la punta)	
Cultivo de caldo Muestra en medio de transporte	650 µl (1º graduación desde la punta)	



- 4. Añada una gota de Conjugado (frasco con tapón rojo) a cada tubo. Preste atención al tiempo total del análisis cuando realice la prueba con más de una muestra fecal. El Diluyente y el Conjugado deben añadirse a los tubos antes de añadir las muestras.
- 5. Utilice una pipeta de plástico desechable (suministrada con el kit) para cada muestra las pipetas tienen graduaciones a 25  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 200  $\mu$ l, 300  $\mu$ l, 400  $\mu$ l y 500  $\mu$ l.

## Pipeta graduada:



 Mezcle bien todas las muestras y cultivos independientemente de su consistencia ya que es muy importante obtener una suspensión homogénea antes de tomar las muestras. Añada la cantidad necesaria de muestra o cultivo al tubo.

<u>Pruebas fecales directas - Muestras líquidas/semisólidas</u> - Utilizando una pipeta, transfiera 25 µl de muestra a la mezcla *Diluyente/Conjugado*. Utilice la misma pipeta para mezclar la muestra diluida.

Pruebas fecales directas - muestras formadas/sólidas - Es preciso tener cuidado para añadir el volumen correcto de heces formadas a la mezcla de muestra. Mezcle bien la muestra con un palito aplicador de madera y transfiera una parte pequeña (aproximadamente de 2 mm de diámetro, el equivalente de 25 µl) de la muestra a la mezcla de Diluyente/Conjugado. Emulsione la muestra con el palito aplicador. Cultivos de caldo y muestras fecales en medios de transporte (Cary Blair o C&S) - Utilizando una pipeta, transfiera 100 µl de muestra a la mezcla Diluyente/Conjugado. Cultivos de placa - Pase a través de un área confluyente de la placa varias veces con una torunda, luego mezcle lo obtenido en la torunda en la mezcla de Diluyente/Conjugado. Rote la torunda contra la parte interior del tubo de ensayo varias veces para liberar la muestra de la torunda. Retire la torunda, mezcle bien y deje incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente antes de continuar con el paso 8 del PROCEDIMIENTO DE PRUEBA.

NOTA: Si se transfiere una cantidad muy reducida de muestra o si no se mezcla y se suspende completamente la muestra en la mezcla de Diluyente puede obtenerse un resultado falso negativo en la prueba. Si se añade una cantidad excesiva de muestra, pueden obtenerse resultados no válidos debido al reducido flujo.

7. Controles externos opcionales:

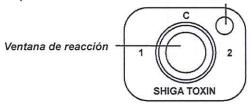
Control positivo externo - añada una gota de Control positivo (frasco con tapón gris) al tubo de ensayo adecuado.

Control negativo externo - añada 25 µl de Diluyente al tubo de ensayo adecuado.

- 8. Cierre cada tubo de muestra diluida o control y mezcle bien. Mezcle adecuadamente con vórtex o invirtiendo el tubo varias veces. Una vez diluida la muestra de paciente o el control en la mezcla Diluyente/Conjugado, esta puede incubarse a temperatura ambiente durante cualquier período de tiempo hasta 2 horas antes de la adición al Dispositivo de Membrana.
- 9. Utilice un Dispositivo de membrana para cada muestra y control externo opcional positivo o negativo según sea adecuado. Las bolsas de papel de aluminio que contienen los dispositivos deben estar a temperatura ambiente antes de proceder a su apertura. Identifique los dispositivos de forma apropiada y oriéntelos en una superficie plana de forma que la inscripción "SHIGA TOXIN" del dispositivo se encuentre en el fondo del mismo y el Pocillo de muestra pequeño se encuentre en la esquina superior derecha del dispositivo.

Dispositivo de membrana





- 10. Compruebe que cada muestra se mezcla bien antes de la adición al Dispositivo de membrana. Utilizando una nueva pipeta, transfiera 500 µl de cada tubo al Pocillo de muestra (orificio más pequeño en la esquina superior derecha del dispositivo) de un Dispositivo de membrana, asegurándose de expeler la muestra líquida en la almohadilla de absorción dentro del Dispositivo de membrana. Cuando cargue la muestra en el pocillo, compruebe que la punta de la pipeta está angulada hacia la Ventana de reacción (orificio mayor en el centro del dispositivo).
- 11. Incube el dispositivo a temperatura ambiente durante 15 minutos la muestra se absorberá a través del dispositivo y el área húmeda se extenderá en la Ventana de reacción. El paso de incubación de 15 minutos comienza después de que se haya transferido la última mezcla de muestra-conjugado diluida al Dispositivo de membrana final.

### NOTA PARA LAS MUESTRAS QUE NO MIGRAN:

Ocasionalmente, una muestra diluida no migra adecuadamente y la Ventana de reacción no se humedece completamente. Si la Ventana de reacción no aparece completamente húmeda en el plazo de 5 minutos después de añadir la muestra al pocillo, añada 100 µl (4 gotas) de Diluyente al <u>Pocillo de muestra</u> y espere otros 5 minutos (para un total de 20 minutos).

- 12. Después de la incubación, añada 300 µl de Tampón de lavado a la Ventana de reacción usando el cuentagotas graduado blanco (o equivalente). Deje que la Solución de lavado penetre en la membrana de la Ventana de reacción y se absorba completamente.
- Añada 2 gotas de Sustrato (frasco con tapón blanco) a la <u>Ventana de reacción</u>.
  Lea y anote los resultados observados después de 10 minutos.

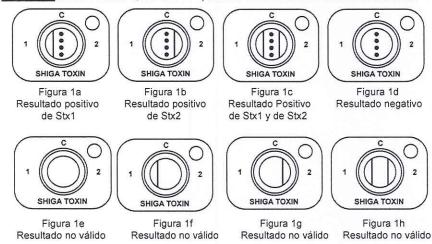
## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

 La interpretación del test es más fiable cuando se lee el dispositivo inmediatamente después del periodo de reacción de 10 minutos. No puede interpretarse un test antes de ese momento. Lea el dispositivo a una distancia normal en una zona bien iluminada. Dirija la mirada a la línea de visión situada directamente sobre el dispositivo.

- Observe en el dispositivo la aparición de una línea de puntos azules en el centro de la Ventana de reacción que representa el control positivo interno. La presencia de cualquier punto de control representa un control interno válido.
- 3. Observe la aparición en el dispositivo de líneas azules en los lados "1" y "2" de la Ventana de reacción que representan las líneas de test. El color de las líneas puede ser débil o intenso. Una línea parcialmente visible se interpreta como una línea válida. No interprete la decoloración de la membrana como un resultado positivo. Resultado positivo Stx1 ("1"): Se ven la línea azul "1" y la línea control de puntos azules debajo de "C" (Figura 1a). Un resultado positivo indica la presencia de Stx1. Resultado positivo Stx2 ("2"): Se ven la línea azul "2" y la línea control de puntos azules debajo de "C" (Figura 1b). Un resultado positivo indica la presencia de Stx2. Resultado positivo Stx1 y Stx2 ("1" y "2"): Se ven tanto la línea azul "1" y la línea azul "2" y también la línea de control de puntos azul debajo de "C" (Figura 1c). Un resultado positivo indica la presencia de Stx1 y Stx2.
- 4. Resultado negativo: Se observa una única línea azul de puntos en el centro de la Ventana de reacción, debajo de "C" y no hay líneas de test visibles en el lado "1" o en el lado "2" de la Ventana de reacción (Figura 1d). Un resultado negativo en el lado "1" indica que Stx1 está ausente en la muestra o está por debajo del límite de detección del test. Un resultado negativo en el lado "2" indica que Stx2 está ausente en la muestra o está por debajo del límite de detección del test.
- Resultado no válido: No se ven líneas en la Ventana de reacción (Figura 1e) o no hay una línea de puntos azules debajo de "C" a la terminación del período de reacción (Figuras 1f, 1g, 1h).
- Un resultado positivo en SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ confirma la presencia de Stx1 y/o Stx2 en la muestra; un resultado negativo indica la ausencia de toxina o niveles insuficientes de toxina para su detección.

Nota: Debido a la importancia epidemiológica de obtener aislados bacterianos positivos para toxina Shiga, se recomienda que todas las muestras positivas para toxina se sometan a cultivo bacteriano para aislar el organismo productor de toxina. Se sugiere que los laboratorios realicen cultivos bacterianos en todas las muestras positivas o coordinen el proceso con sus laboratorios sanitarios locales y estatales en Estados Unidos.

### FIGURA 1: SHIGA TOXIN QUIK CHEK™, INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS



### CONTROL DE CALIDAD

<u>Interno:</u> Debe observarse una línea azul de puntos en el centro de la *Ventana de reacción*, debajo de "C" en cada *Dispositivo de membrana* que se estudie. La aparición de la línea azul de control confirma que se han añadido correctamente la muestra y los reactivos, que

los reactivos estaban activos durante la realización del análisis y que la mezcla ha migrado adecuadamente a través del *Dispositivo de membrana*. Un fondo transparente en el área de resultados se considera como un control negativo interno. Si el test se ha realizado adecuadamente y los reactivos funcionan correctamente, el fondo será de blanco a azul claro para dar un resultado apreciable.

Externo: La reactividad del kit SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ debe comprobarse al recibir el kit usando el Control positivo y el control negativo (Diluyente). El Control positivo se suministra con el kit (frasco con tapón gris). El Control positivo se utiliza para verificar la reactividad de los demás reactivos del ensayo y su objetivo no es asegurar la precisión del punto de corte del ensayo. El Diluyente se utiliza para el control negativo. Pueden realizarse tests adicionales con los controles para cumplir los requisitos administrativos locales, regionales o federales y los de los organismos de acreditación.

#### LIMITACIONES

- El test SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ se utiliza para detectar Stx1 y Stx2 en muestras fecales y cultivos derivados de muestras fecales. La prueba confirma la presencia de Stx1 y Stx2 en la muestra y esta información deberá analizarla el médico junto con la anamnesis y la exploración física del paciente.
- Un resultado negativo del test no descarta la posibilidad de la presencia de toxinas Shiga en la muestra, lo que puede producirse si el nivel de antígeno está por debajo del límite de detección de la prueba.
- El test SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ es cualitativo. La intensidad del color no debe interpretarse cuantitativamente.
- La toxina producida por Shigella dysenteriae es casi idéntica a la Stx1 producida por E. coli (26), y si está presente a niveles detectables, dará un resultado positivo en el lado "1" de la Ventana de reacción.

### **VALORES ESPERADOS**

La prueba SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ detecta la presencia de Stx1 y Stx2. Cada laboratorio debe establecer los valores esperados para una población concreta. La tasa de positividad puede depender de diversos factores, como la geografía, el proceso de recogida, manipulación y transporte de muestras, la edad del paciente.

Se estima que *E. coli* con toxina Shiga causa de unos 110.000 casos (0,04% de la población) de enfermedades causadas por alimentos anualmente en Estados Unidos (11). Las tasas de incidencia comunicadas en muestras fecales remitidas para pruebas van del 0% al 4,1% - 18) y varían dependiendo de la estación del año, la localización geográfica y la población de pacientes, observándose mayores tasas de incidencia en los meses de verano y en los niños preescolares y los ancianos (27). Un resultado positivo en *SHIGA TOXIN QUIK CHEK™* confirma la presencia de Stx1 y/o Stx2 en la muestra; un resultado negativo indica la ausencia de toxina o niveles insuficientes de toxina para su detección.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se evaluó el rendimiento de la prueba SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ en 3 centros independientes. A continuación se muestra un resumen del rendimiento global en los 3 centros.

### Pruebas fecales directas

Se comparó el rendimiento de la prueba *SHIGA TOXIN QUIK CHEK*™ (STQC) con el del Ensayo de Citotoxina de Célula Vero (con neutralización), considerado el patrón de referencia clínica (patrón oro) y se incluyeron 873 muestras frescas y 14 congeladas. Se dispuso de información sobre edad y sexo de 878 pacientes. De los 878 pacientes, el 8% eran ≤ 18 años y el 59,8% eran mujeres y el 40,2% eran varones. Las tablas siguientes muestran un resumen del rendimiento clínico de la porción Stx1 y la porción Stx2 de la prueba *SHIGA TOXIN QUIK CHEK*™ en los 3 centros. Los resultados demuestran que la porción Stx1 mostró una sensibilidad del 98,0%, una especificidad del 99,8% y una

Dr. ALEJANDRO F. CELIA DIRECTOR TECNICO M.N. 10933 correlación global del 99,7% con el ensayo de citotoxina. La porción Stx2 mostró una sensibilidad del 98,0%, una especificidad del 100% y una correlación global del 99,9% con el ensayo de citotoxina.

## Resultados en pruebas fecales directas

	Ensayo con citotoxina de célula Vero		
n = 887	Stx1 +	Stx1 -	
STQC Stx1 +	48	2	
STQC Stx1 -	1	836	

	Ensayo con citotoxina de célula Vero		
n = 887	Stx2 +	Stx2 -	
STQC Stx2 +	48	0	
STQC Stx2 -	1	838	

		Intervalo de Confianza del 95%
Sensibilidad	98,0%	87,8 - 99,9%
Especificidad	99,8%	99,0 - 99,9%
Correlación	99,7%	99,7 - 99,7%

		Intervalo de Confianza del 95%
Sensibilidad	98,0%	87,8 - 99,9%
Especificidad	100%	99,4 - 99,9%
Correlación	99,9%	100 - 100%

### Cultivos de caldo

Se comparó el rendimiento de la prueba SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ usando cultivos de caldo por la noche (caldo GN o MacConkey) de muestras fecales con el del Ensayo de Citotoxina de Célula Vero (con neutralización). Las tablas siguientes muestran un resumen del rendimiento clínico de la porción Stx1 y de la porción Stx2 de la prueba SHIGA TOXIN QUIK CHEK™. Los resultados demuestran que la porción Stx1 mostró una sensibilidad del 100%, una especificidad del 99,5% y una correlación global del 99,5% con el ensayo de citotoxina. La porción Stx2 demostró una sensibilidad del 95,7%, una especificidad del 99,9% y una correlación global del 99,6% con el ensayo de citotoxina.

## Resultados de pruebas en cultivos de caldo

	Ensayo con citotoxina de célula Vero		
n = 770	Stx1 +	Stx1 -	
STQC Stx1 +	42	4	
STQC Stx1 -	0	742	

	Ensayo con citotoxina de célula Vero		
n = 770	Stx2 +	Stx2 -	
STQC Stx2 +	45	1	
STQC Stx2 -	2	722	

		Intervalo de Confianza del 95%
Sensibilidad	100%	89,6 - 100%
Especificidad	99,5%	98,5 - 99,8%
Correlación	99,5%	99,5 - 99,5%

		Intervalo de Confianza del 95%
Sensibilidad	95,7%	84,3 - 99,3%
Especificidad	99,9%	99,1 - 100%
Correlación	99,6%	99,6 - 99,6%

## REPRODUCIBILIDAD

Se determinó la reproducibilidad del test SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ usando 12 muestras fecales que se codificaron para impedir su identificación durante las pruebas. Las pruebas de realizaron en 2 laboratorios independientes e in situ en TECHLAB, Inc. Las muestras se estudiaron dos veces al día a lo largo de un período de 5 días por parte de múltiples clínicos en cada centro, usando 2 lotes diferentes del kit. Se estudió un control positivo y negativo con cada panel de las muestras enmascaradas. Los resultados de cada laboratorio se remitieron posteriormente a TECHLAB, Inc. y se compararon con resultados internos. Los resultados fueron coherentes entre las diferentes localizaciones y mostraron una correlación del 100%. Las muestras produjeron los resultados esperados en todos los casos.

### REACTIVIDAD CRUZADA

Se evaluó la reactividad cruzada de la prueba SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ con las cepas bacterianas y víricas enumeradas a continuación. Ninguna de las cepas mostró interferencia con el rendimiento de la prueba SHIGA TOXIN QUIK CHEK™

Aeromonas hydrophila Campylobacter jejuni

Campylobacter coli Candida albicans

Campylobacter fetus Citrobacter freundii Enterobacter cloacae

Clostridium difficile Enterococcus faecalis

Clostridium perfringens Escherichia coli (non-toxigenic)

Escherichia coli O157:H7 (non-toxigenic) Escherichia coli EPEC (enteropathogenic) Escherichia fergusonii

Escherichia hermannii

Escherichia coli EIEC (enteroinvasive) Escherichia coli ETEC (enterotoxic) Gardnerella vaginalis

Helicobacter pylori Proteus vulgaris

Klebsiella pneumoniae Providencia stuartii

Lactobacillus acidophilus Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas fluorescens Salmonella typhimurium

Serratia liquefacians

Salmonella enteric serovar minnesota Shigella flexneri

Shigella sonnei Staphylococcus aureus (Cowan) Yersinia enterocolitica

Staphylococcus aureus Staphylococcus epidermidis

Human Adenovirus, Type 2, 14, 40 and 41 Human Enterovirus 69

Feline calicvirus

Human Coxsackievirus A9, B1 Human rotavirus

#### CEPAS/SEROTIPOS

Se estudiaron diversas cepas y serotipos de E. coli productores de toxina Shiga en la prueba SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ mediante los métodos de cultivo en placa de Sorbitol MacConkey Agar (SMAC) y caldo MacConkey. Se estudiaron también cepas de Escherichia coli O157 usando cultivos en placas de CT-SMAC y ChromAgar® O157. Cada cepa es un aislado clínico y cada una de ellas se estudió mediante un ensayo de citotoxinas y una reacción en cadena de la polimerasa (RCP) para confirmar la presencia del(de los) gen(es) de la toxina Shiga. Todos los organismos generaron resultados positivos para la(s) toxina(s) adecuada(s) cuando se estudiaron. A continuación se muestra una lista de los serotipos estudiados, el número de cepas estudiadas en ese tipo de grupo y el tipo de toxina producida por cada cepa.

Toxina Shiga de tipo Stx1: Tipos de cepas - O26:H11 (5 cepas), O157:H7, O111:NM (2 cepas), O111a:NM, O103:H2, O103:H25, O103:H6, O103:N, O111:H11, O111:H8, O145:H16, O145:NM, O45:H2 (4 cepas), O45:NM, O125:NM, O146:H21, O156:H21, O26, O5:N, O70:H11 Toxina Shiga de tipo Stx2: Tipos de cepas - O26:H11, O157:H7 (4 cepas), O157:NM, O8:H19 (2 cepas), O8:H10, ORU:H29, O177:NM, O6:H10, O104:H4 (cepa del brote europeo de 2011), O121:H19 (3 cepas), O121, O145:H28, O145, O113:H21, O104:H21, O55:H7, O91:H21 Toxina Shiga de tipos Stx1 y Stx2: Tipos de cepas - O157:H7 (7 cepas), O157:NM (2 cepas), O111:H8, O111, O111:NM, O113:H21

## SUSTANCIAS INTERFERENTES (formulaciones de EE.UU.)

Las siguientes sustancias no tuvieron ningún efecto en los resultados positivos o negativos de la prueba analizadas a las concentraciones indicadas: mucina gástrica de cerdo (3,5% p/v), sangre humana (40% v/v), sulfato de bario (5% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Maalox® Advanced (5% v/v) ácido estérico/palmítico (40% p/v), metronidazol (0,25% p/v), vancomicina (0,25% p/v), Prilosec OTC® (5 μg/ml), TUMS (50 μg/ml), Tagamet® (5 μg/ml), leucocitos (0,05% v/v), ciprofloxacino (0,25% p/v).

## PRECISIÓN - INTRAANALÍTICA

Para la determinación del rendimiento intraanalítico, se analizaron 6 muestras fecales positivas (dos positivas para Stx1, dos positivas para Stx2, dos positivas tanto para Stx1 como para Stx2) y seis muestras fecales negativas. Se ensayó cada muestra en 5 cassettes. Todos los resultados positivos siguieron siendo positivos y todos los resultados negativos, negativos.

## PRECISIÓN - INTERANALÍTICA

La precisión interanalítica del test *SHIGA TOXIN QUIK CHEK*™ se determinó usando 12 muestras fecales (seis negativas, dos positivas para Stx1, dos positivas para Stx2 y dos positivas tanto para Stx1 como para Stx2). Las muestras se estudiaron dos veces al día a lo largo de un período de 5 días usando 2 lotes de kits diferentes. Se estudió un control positivo y negativo cada día. Todos los resultados positivos siguieron siendo positivos y todos los resultados negativos, negativos.

## SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El valor de corte de la prueba SHIGA TOXIN QUIK CHEK™ se estableció en concentraciones de 0,04 ng/ml de Stx1 y 0,04 ng/ml de Stx2.

Dr. ALEJANDRO F. CELIA DIRECTOR TECNICO M.N. 10933