

CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXINA A y B – ELISA (MB004)

UTILIDAD CLINICA

Este examen es para usarse en muestras fecales de pacientes con diarrea para determinar específicamente la presencia de las toxinas A y B de *Clostridium difficile* mediante ensayo inmunoenzimático (ELISA). Esta prueba es superior a otras

que detectan únicamente la toxina A. La prueba es clínicamente útil en niños o adultos con diarrea por antibióticos o colitis con cultivo negativo a patógenos comunes y en pacientes hospitalizados que desarrollan diarrea intra-hospitalaria.

DESCRIPCION

Detección cualitativa de toxinas A/B de *C. difficile* mediante ensayo inmunoenzimático de microplaca en fase sólida con anticuerpos monoclonales y policlonales (C DIFFICILE TOX A/B II, TechLab/Wampole Inc., Blacksburg, VA, USA) en muestra de heces

INFORMACION CLINICA

La infección por *C. difficile* causa 15%-25% de todos los casos de diarrea asociada a antibióticos y su rango de severidad puede ir desde una diarrea leve hasta colitis pseudo-membranosa fulminante. Edad avanzada, hospitalización por más de 72 horas, empleo de ciertos antibióticos como clindamicina, cefalosporinas y betalactámicos, empleo de algún antibiótico por tiempo prolongado o empleo de más de un antibiótico a la vez son factores de riesgo para adquirir infección por *C. difficile*. La infección por *C. difficile* se ha descrito también en situaciones menos complejas como cursos cortos de profilaxis con antibióticos. La epidemiología de la infección por *C. difficile* está cambiando. Su frecuencia ha au-

mentado considerablemente así como han cambiado su presentación clínica, respuesta al tratamiento y resultado final. Estos cambios se atribuyen a la aparición y diseminación de cepas nuevas más virulentas. El diagnóstico rápido y preciso de esta infección es esencial para su buen manejo. El ensayo de citotoxicidad en células cultivadas es el método de referencia para detectar las toxinas de *C. difficile*. Sin embargo, este método es largo, costoso y técnicamente complejo. El diagnóstico mediante ELISA para detectar directamente las toxinas A/B de *C. difficile* proporciona resultados en pocas horas, es técnicamente más sencillo y altamente específico aunque su sensibilidad sea algo menos que satisfactoria.

Diarrea por antibióticos?
Diarrea en paciente hospitalizado?
Considere *C. difficile*... es la causa más común.

MUESTRA

Heces frescas, refrigeradas o congeladas, en recipiente apropiado (frasco limpio, seco, de boca ancha y tapa hermética). Mínimo 5 mL (5 g) - Mayor cantidad si conjuntamente se solicitan otros exámenes.

INSTRUCCIONES PARA OBTENCION Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA

Obtener la muestra en frasco limpio de boca ancha y tapa hermética. No mezclar la muestra con orina, cremas o talco. Colectar la mayor cantidad posible. En niños pequeños colocar el pañal al revés (por la parte no absorbente), cubrir la salida de la uretra con un trozo de algodón (para no contaminar la muestra con orina) y trasvasar la muestra al frasco. Muestras en pañal no son aceptables. Enviar la muestra al laboratorio inmediatamente después de su obtención en caja térmica

con refrigerantes. Muestras que no pueden ser enviadas al laboratorio antes de 3 horas desde su obtención deben ser congeladas a -20°C hasta su envío. Muestras en un medio de preservación como Cary-Blair son aceptables para esta prueba hasta por 72 horas desde su obtención. No coleccionar la muestra en recipientes que contengan formol o compuestos similares, sueros animales, iones metálicos, agentes oxidantes o detergentes debido a posibles interferencias con la prueba.

METODO DE ANALISIS

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) de microplaca en fase sólida. Los pocillos de la microplaca de titulación están recubiertos con anticuerpo policlonal contra la toxina A y B de *C. difficile*. El anticuerpo detector es una mezcla de anticuerpos monoclonales contra toxina A y anticuerpos policlonales contra toxina B, ambos conjugados con peroxidasa. En el ensayo, una alícuota de la muestra en suspensión se añade al pocillo. Si las toxinas A o B están presentes en la muestra, se unirán al

anticuerpo detector durante la fase de incubación. Cualquier material no enlazado es removido durante los pasos de lavado. Tras la adición del sustrato, se detecta color debido a los complejos enzima-anticuerpo-antígeno que se forman en presencia de la toxina. La intensidad de la reacción de color se determina leyendo su absorbancia en espectrofotómetro a 450/620 nm. La absorbancia se expresa como positiva o negativa según el valor límite pre-establecido (cut off).

RANGO DE RESULTADOS

Positivo o negativo

RANGO NORMAL

Negativo, No hay toxina A/B de *C. difficile*

TIEMPO DE ENTREGA DE RESULTADOS

6 - 12 horas desde recibida la muestra

INTERPRETACION DE RESULTADOS

Esta prueba en formato ELISA (C DIFFICILE TOX A/B II, TechLab/Wampole Inc., Blacksburg, VA, USA) detecta mediante anticuerpos monoclonales y policlonales las toxinas A/B de *C. difficile* que pudieran estar presente en la materia fecal. La especificidad de esta prueba es de 100% comparada con diagnóstico por ensayo de citotoxicidad en células cultivadas. Un resultado POSITIVO con esta prueba, por tanto, indica firmemente la presencia de *C. difficile* y que esta bacteria podría ser la causa de los síntomas del paciente. Si el resultado se informa NEGATIVO es probable que *C. difficile* no esté realmente en el intestino. La sensibilidad de esta prueba comparada con ensayo de citotoxicidad en células cultivadas es de 83.3% pero puede ser tan baja como 66% por lo que un resultado NEGATIVO con esta prueba no

excluye totalmente el diagnóstico. Los límites de detección de toxinas A/B de *C. difficile* con ELISA están en el rango de 100 a 1000 pg de toxina comparado con < 10 pg cuando se detecta con ensayo de cito-toxicidad en células cultivadas. Además, las toxinas de *C. difficile* son muy lábiles y se pueden degradar fácilmente y dar un resultado falso negativo si la muestra no está conservada en refrigeración antes de llegar al laboratorio. Esta prueba es específica para toxina A/B de *C. difficile*, un resultado POSITIVO o NEGATIVO con esta prueba no excluye la presencia de otros agentes enteropatógenos. Esta información es sólo para ser tomada en cuenta. El médico es el más indicado para decidir lo que se deba hacer en base a los síntomas, el cuadro clínico y el resultado de esta prueba.

LIMITACIONES Y RECOMENDACIONES

1. Mantener la muestra refrigerada desde su obtención hasta su llegada al laboratorio; la sensibilidad de la prueba puede decaer en muestras expuestas a temperaturas elevadas;
2. Pueden obtenerse resultados falso-negativos si la prueba se hace cuando el paciente está tomando antimicrobianos como metronidazol o vancomicina; debe discontinuarse el tratamiento y obtener la muestra 72 horas después;
3. Si el resultado de la prueba es NEGATIVO y la sospecha de la infección es muy fuerte puede ser conveniente repetir la prueba en una nueva muestra; repetir el examen en una segunda muestra puede incrementar en 5% a 10% la posibilidad de detectar las toxinas.

PORQUE DEBO HACER ESTA PRUEBA EN GASTROLAB?

1. Utilizamos los reactivos de diagnóstico de uno de los mejores fabricantes del mundo, como lo hacen los mejores laboratorios;
2. Hemos adquirido una enorme experiencia en la aplicación del método ELISA para detectar antígenos fecales; no es cosa fácil pero lo hacemos muy bien: más de 700 exámenes por año;
3. Procesamos la muestra tan pronto llega al laboratorio y no en lote como es habitual en otros laboratorios...es más costoso así, pero es mejor para el paciente porque tiene sus resultados más pronto;
4. Ofrecemos abundante información para ayudar a elegir el mejor examen, para obtener una muestra adecuada y para interpretar los resultados.

HORARIO DE RECEPCION DE MUESTRAS

Lunes a Viernes de 7:30 AM a 8:30 PM

Sábados de 7:30 AM a 6:30 PM

Atención fuera de horario, llamar al 990-371-374

**PREGUNTE POR NUESTRO SERVICIO DE RECOJO DE MUESTRAS A DOMICILIO
ACEPTAMOS MUESTRAS DE OTROS LABORATORIOS Y DE PROVINCIAS**