

TOXINAS SHIGA DIRECTO EN HECES – ELISA (MB014)

UTILIDAD CLINICA

Este examen es útil en muestras fecales de pacientes con diarrea para detectar la presencia de toxinas Shiga (Stx1 y Stx2) mediante ensayo inmunoenzimático (ELISA). Es una prueba de diagnóstico

rápido que puede ayudar en la decisión de dar o no antibióticos en casos de diarrea con sangre cuando se sospecha una infección por *Escherichia coli* productora de Toxina Shiga (STEC).

DESCRIPCION

Detección cualitativa de toxinas Shiga (Stx1 y Stx2) mediante ensayo inmunoenzimático de microplaca en fase sólida con anticuerpos monoclonales y policlonales (ProSpecT Shiga Toxin E. coli [STEC], Remel Inc., Lenexa, KS, USA) en muestra de heces. El examen se hace directamente (sin enriquecimiento previo).

INFORMACION CLINICA

Las toxinas Shiga son un grupo de citotoxinas producidas por cepas de la bacteria *Escherichia coli* estructural y funcionalmente similares a la toxina producida por *Shigella dysenteriae* serotipo 1. Las *E. coli* que producen estas toxinas se denominan genéricamente *E. coli* productora de Toxina Shiga (STEC). STEC es un enteropatógeno prominente no tanto por su prevalencia cuanto porque puede causar enfermedades graves y potencialmente letales como Colitis Hemorrágica, Síndrome Hemolítico Urémico (SHU) y Púrpura Trombótica Trombocitopénica. Animales domésticos, en particular bovinos, son el principal reservorio de STEC; la infección en las personas suele ser por consumo de alimentos de origen animal como carne molida parcialmente cocida, leche y otros productos lácteos no pasteurizados y productos cárnicos secos o fermentados como salami. Se han descrito cerca de 50 serotipos de STEC; el serotipo O157:H7 es el más común en Estados Unidos, Japón y Reino Unido; los serotipos O26:H11, O111:H8 y O91:H21 son más frecuentes en regiones como Argentina, Chile y Perú. La identificación de STEC mediante cultivo en agar sorbitol toma de 2 a 3 días y detecta solamente cepas del serotipo O157. En cambio, el diagnóstico mediante detección directa de

toxinas Shiga permite identificar todas las cepas STEC sean o no fermentadoras de sorbitol. La detección de toxinas Shiga mediante ensayo de citotoxicidad en células Vero es técnicamente más compleja, toma mucho más tiempo y es bastante más costosa que por el método ELISA. El cuadro clínico de la enfermedad causada por STEC comienza usualmente con dolor abdominal y diarrea acuosa; al cabo de 1 a 2 días la diarrea se hace francamente sanguinolenta y el dolor abdominal más severo por lo que no es infrecuente que el médico considere inicialmente otros diagnósticos como invaginación intestinal o apendicitis. La colitis hemorrágica causada por STEC puede semejar una disentería por *Shigella* o *Campylobacter* o colitis pseudomembranosa por *Clostridium difficile* pero se distingue de ellas por ausencia de fiebre y poca reacción inflamatoria. SHU ocurre en aproximadamente 10% de los casos infectados con STEC y aparece en promedio una semana después del inicio de la diarrea. El diagnóstico rápido de esta infección es importante tanto para evitar procedimientos quirúrgicos o exámenes invasivos innecesarios y costosos como para prevenir la administración de terapia antibiótica que está generalmente contraindicada en pacientes infectados con STEC.

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 de lugares

fuera de Lima o que no pueden enviarse 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 colectar 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.

Puede ser vital buscar STEC en diarreas con sangre, sobre todo si hay poca reacción inflamatoria

METODO DE ANALISIS

Enzimoimmunoensayo (ELISA) de microplaca en fase sólida con anticuerpos policlonales. Los pocillos de la microplaca de titulación están recubiertos con anticuerpos contra toxinas shiga 1 y 2. En el ensayo, se añade al pocillo una suspensión de la muestra y un anticuerpo monoclonal con peroxidasa. Se incuba, se lava y se a-

grega el sustrato de color. Si hay toxina, el sustrato da una reacción de color. Se lee la absorbancia de la reacción de color en espectrofotómetro a 450/620 nm. La absorbancia se expresa como positiva o negativa según el valor límite (cut off).

RANGO DE RESULTADOS

Positivo o negativo

RANGO NORMAL

Negativo, no hay toxinas Shiga (Stx1 o Stx2)

TIEMPO DE ENTREGA DE RESULTADOS

6 - 12 horas desde recibida la muestra

INTERPRETACION DE RESULTADOS

Esta prueba en formato ELISA (ProSpecT Shiga Toxin E. coli [STEC], Remel Inc., Lenexa, KS, USA) detecta la presencia en materia fecal de las toxinas Stx1 y Stx2 producidas por diversos serotipos de *E. coli* conocidas como STEC. La especificidad de esta prueba es de 98.6% comparada con cultivo y/o ensayo de citotoxicidad en células Vero. Un resultado POSITIVO con esta prueba, por tanto, indica firmemente la presencia de toxinas Shiga y que esto podría ser la causa de los síntomas del paciente. Este examen no proporciona información sobre cuál es exactamente la bacteria que produce toxina Shiga ni distingue si la toxina Shiga identificada es Stx1 o Stx2. Si el resultado se informa NEGATIVO es probable que STEC no esté realmente en el intestino. La sen-

sibilidad de esta prueba es de 87% por lo que un resultado NEGATIVO con esta prueba no excluye totalmente el diagnóstico. Un resultado falso NEGATIVO puede deberse a una cantidad de toxina en la muestra que está por debajo del nivel de detección del ELISA al momento de coleccionar la muestra o a un deterioro de la toxina durante su transporte al laboratorio. Esta prueba es específica para toxinas Shiga, 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 la llegada al laboratorio; las toxinas pueden deteriorarse en muestras expuestas a temperaturas elevadas durante el transporte al laboratorio;
2. Un resultado NEGATIVO no excluye la posibilidad de infección por STEC - el resultado NEGATIVO puede deberse a que la muestra se colectó cuando la excreción fecal de la toxina había declinado a niveles por debajo del nivel de detección del ELISA o a un deterioro de la toxina durante su transporte al laboratorio; 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.

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. 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**