

# RIDASCREEN<sup>®</sup> Taenia solium IgG

Art. n°.: K7721



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Alemania  
Telf.: +49 6151 8102-0 / Fax: +49 6151 8102-20



## **1. Área de aplicación**

Para el diagnóstico *in vitro*. El RIDASCREEN® Taenia solium IgG es un test de enzimoimmunoensayo para la identificación cualitativa de anticuerpos IgG contra Taenia solium y sus hidátides (cisticercos) en el suero humano.

El test debe realizarse cuando existan sospechas fundadas de una infección con Taenia solium.

## **2. Resumen y explicación del test**

Después de una infección con Taenia solium el sistema inmune reacciona con la producción de anticuerpos específicos contra el agente patógeno. Estos agentes se pueden detectar en el suero con ayuda de procedimientos inmunológicos. Para el valor informativo del test es importante, además de la selección del antígeno específico contra el agente patógeno, también el método de análisis empleado.

## **3. Fundamento del test**

Los antígenos purificados se encuentran unidos a la microplaca de titulación. Los anticuerpos presentes en muestras de suero de los pacientes se enlazan a los antígenos y son detectados en un segundo paso mediante una proteína A marcada con una enzima (conjugado). La enzima convierte el sustrato incoloro (peróxido de urea/TMB) en un producto final azul. La reacción enzimática se termina mediante la adición de ácido sulfúrico. Así ocurre también de forma simultánea un cambio de color del azul al amarillo. Acto seguido se realiza la determinación en un fotómetro a 450 nm (longitud de onda de referencia  $\geq 620$  nm).

#### 4. Contenido del envase

Los reactivos de un envase alcanzan para 96 determinaciones.

<b>Plate</b>	96	Microplaca de titulación, 12 tiras de microtitulación (separables) en marco de soporte; recubiertas con antígeno de <i>Taenia solium</i>
<b>Diluent</b>	100 ml	Buffer de muestras, solución de NaCl tamponada con buffer de fosfato, lista para el uso; teñida de amarillo
<b>SeroWP</b>	100 ml	Buffer de lavado, concentrado 10 veces; solución de NaCl tamponada con buffer de Tris
<b>Control +</b> <i>tapa roja</i>	1,2 ml	Control positivo IgG, Suero humano, listo para el uso
<b>Control -</b> <i>tapa incolora</i>	2,5 ml	Control positivo IgG, Suero humano, listo para el uso
<b>Conjugate</b> <i>tapa anaranjada</i>	12 ml	Conjugado de proteína A; listo para el uso; proteína A conjugada con peroxidasa en solución de proteína estabilizada
<b>SeroSC</b>	12 ml	Sustrato H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /Tetrametilbenzidina; listo para el uso
<b>Stop</b>	12 ml	Reactivo de parada 1 N de ácido sulfúrico, listo para el uso

Datos de sustancias peligrosas conforme a la obligación de identificación. Encontrará información más detallada en las hojas de datos de seguridad (MSDS) en [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

#### 5. Reactivos y su almacenamiento

Este Kit, almacenado a una temperatura entre 2° y 8 °C, puede ser utilizado hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. El buffer de lavado diluido se puede conservar 4 semanas si se mantiene a 2 – 8 °C, o cinco días a temperatura ambiente (20 – 25 °C). Después de la fecha de caducidad no se asume ninguna garantía de calidad.

La bolsa de aluminio donde viene la microplaca se debe abrir de manera que el cierre a presión no sea eliminado. Las tiras de microtitulación no usadas se deben guardar en la bolsa de aluminio cerrada. Se debe evitar la contaminación de los reactivos al igual que la incidencia directa de luz sobre el sustrato incoloro.

## **6. Reactivos adicionales necesarios – accesorios requeridos**

### 6.1. Reactivos

- Agua destilada o desionizada

### 6.2. Accesorios

- Tubos de muestra
- Agitador Vortex
- Micropipetas para volúmenes de 10 – 100 µl y 100 – 1000 µl
- Probeta (1000 ml)
- Cronómetro
- Instrumento de lavado para las microplacas de titulación o pipeta multicanal
- Fotómetro para microplacas de titulación (450 nm, filtro de referencia  $\geq$  620 nm)
- Papel de filtro (paños de laboratorio)
- Recipiente de desechos con una solución de hipoclorito al 0,5 %

## **7. Medidas de seguridad**

Sólo para el diagnóstico in vitro.

Deberán respetarse las directrices para el trabajo en laboratorios médicos. Deben respetarse estrictamente las instrucciones de uso para la realización del ensayo. No pipetear muestras ni reactivos con la boca. Evitar el contacto con lesiones cutáneas o membranas mucosas. Durante el manejo de reactivos y muestras, debe llevarse equipamiento personal de protección (el material de los guantes debe ser el adecuado, bata, gafas protectoras) y lavarse las manos una vez finalizado el ensayo. No fumar, comer ni beber en zonas donde se trabaje con muestras.

Encontrará información más detallada en las hojas de datos de seguridad (MSDS) en [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

Los sueros de control del kit (controles positivo y negativo) fueron verificados y no contienen anticuerpos VIH ni HCV así como tampoco HBSAg. No obstante Ud. debe considerarlos, al igual que las muestras de pacientes y otros materiales con los cuales entre en contacto, como potencialmente infecciosos y manejarlos en correspondencia con las regulaciones de seguridad nacionales.

Tras su utilización, deberán desecharse todos los reactivos y demás materiales debidamente y por propia cuenta y riesgo.

Tenga en cuenta la normativa vigente en su país a la hora de eliminar materiales usados!

## 8. Recolección y conservación de las muestras

El test fue desarrollado para el examen de muestras de suero humano. Después de la extracción de sangre se debe separar el suero lo antes posible de los coágulos para evitar la hemólisis. Las muestras se deben guardar en frío o congeladas hasta que se realice el test.

Evite por todos los medios congelar y descongelar el suero varias veces, así como su contaminación microbiana. El empleo de muestras inactivadas por el calor, lipémicas, hemolíticas, ictéricas o turbias puede conducir a resultados falsos.

Tabla 1: Conservación de las muestras

Suero sin diluir		Suero diluido
2 – 8 °C	-20 °C	2 – 8 °C
1 semana	> 1 semana	7 horas

## 9. Realización del test

### 9.1. Generalidades

Antes de su uso se deben llevar todos los reactivos y las tiras de microtitulación a la temperatura ambiente (20 – 25 °C). Las tiras de microtitulación no se deben sacar de la bolsa de aluminio hasta que no hayan alcanzado la temperatura del ambiente. Los reactivos se deben mezclar bien inmediatamente antes de su empleo. Después de su uso se debe conservar inmediatamente el kit de prueba a la misma temperatura de 2 – 8 °C.

Se debe extraer solamente tanta cantidad de reactivo como sea necesaria para la realización del test. Las cantidades sobrantes de reactivo no se deben retornar a los frascos, ya que esto puede provocar una contaminación.

Las tiras de microtitulación sólo pueden ser utilizadas una vez. Los reactivos y las tiras de microtitulación no se deben usar cuando el envase esté dañado o los recipientes hayan perdido su hermeticidad.

El buffer de lavado y el de las muestras, así como el sustrato no son específicos del test; y pueden ser por tanto empleados también en los demás tests RIDASCREEN® ELISA para la identificación de anticuerpos contra parásitos.

### 9.2. Preparación del buffer de lavado

Se mezcla 1 parte del buffer de lavado concentrado **SeroWP** con 9 partes de agua destilada. Con este fin se transfieren 100 ml del concentrado a una probeta de 1000 ml y se completa con agua destilada a 1000 ml. Los cristales que pudieran encontrarse en el buffer concentrado se deben solubilizar primeramente con calor (baño María a 37 °C).

El buffer de lavado diluido se puede conservar 4 semanas si se mantiene a 2 – 8 °C, o cinco días a temperatura ambiente (20 – 25 °C).

### 9.3. Preparación de las muestras

Las muestras de suero que se analizarán se diluyen 1:50 con el buffer de muestras **Diluent** antes de comenzar el test.

por ej. 10 µl Suero + 490 µl **Diluent**

### ¡Atención!

**Los controles positivo y negativo están listos para el uso y no deben ser diluidos.**

### 9.4. Primera incubación

Después de introducir suficiente cantidad de cavidades en el marco de la microplaca se pipetea respectivamente 100 µl de los sueros diluidos y de los controles **Control -** y **Control +** a los pocillos correspondientes y se incuba 15 minutos a temperatura ambiente (20 – 25 °C). Se recomienda realizar una determinación por duplicado del control negativo **Control -**.

### 9.5. Lavar

Las cavidades se deben vaciar a un recipiente de desechos con hipoclorito para la desinfección. Posteriormente se sacude la placa sobre un papel absorbente para eliminar los restos de humedad. Seguidamente se lava 5 veces con 300 µl de buffer de lavado en cada caso. Después de cada enjuague se cuida de vaciar completamente la placa sacudiéndola sobre partes secas y no usadas del papel.

Cuando se usen lavadores automáticos se debe poner atención al ajuste correcto del instrumento al tipo de microplaca utilizado. Después del último lavado se debe sacudir la placa cuidadosamente sobre papel absorbente limpio o paños de laboratorio para eliminar la humedad residual.

### 9.6. Segunda incubación

Adición de 100 µl de conjugado de proteína A **Conjugate** a cada uno de los pocillos. A continuación se incuba la microplaca durante 15 minutos a temperatura ambiente (20 – 25 °C).

### 9.7. Lavar

Lavar 5 veces según el punto 9.5.

### 9.8. Tercera incubación

Transferir a cada cavidad 100 µl de sustrato **SeroSC**. A continuación se incuba la microplaca durante 15 minutos a temperatura ambiente (20 – 25 °C). Después se adicionan 50 µl de reactivo de parada **Stop** en cada una de las cavidades para detener la reacción. Se mezcla cuidadosamente (con ligeros golpes en los bordes de la placa) y se mide la absorbancia a 450 nm en un fotómetro lector de placas (longitud de onda de referencia  $\geq 620$  nm). La compensación del valor cero se hace contra aire.

## **10. Control de calidad – Indicios de reactivos vencidos**

Como control de calidad se debe realizar en cada test un control positivo y un control negativo (en determinación doble). El test ha transcurrido correctamente si el valor promedio de la absorbancia del control negativo a 450 nm es menor que 0,3. Si los valores de las dos mediciones individuales difieren del valor promedio en más de 25%, se requiere repetir el test. El valor de absorbancia del control positivo a 450 nm tiene que ser mayor de 0,8.

Una desviación de los valores requeridos, lo mismo que una turbidez o coloración azul del sustrato incoloro antes de ser transferidos a las cavidades, puede ser un indicio del vencimiento de los reactivos.

Si los valores predefinidos no se cumplen, se deben verificar los siguientes puntos antes de repetir el análisis:

- Durabilidad de los reactivos empleados
- Funcionamiento correcto de los instrumentos utilizados (por ej. la calibración)
- Ejecución correcta del test
- Control visual de los componentes del kit con respecto a contaminación o pérdida de hermeticidad; una solución de sustrato azulada no se debe volver a usar.

Si al repetir la determinación se obtienen nuevamente valores incorrectos Ud. debe dirigirse al distribuidor local de R-Biopharm.

## **11. Evaluación e interpretación**

### 11.1. Cálculo del Índice de las Muestras

1. El valor promedio de la absorbancia del control negativo se calcula.
2. Al valor promedio de la absorbancia se le suma 0,150. Como resultado se obtiene el cut-off del test.
3. Dividiendo el valor de la absorbancia de la muestra por el valor cut-off se obtiene el Índice de las Muestras.

por ej.: Control negativo 1      D.O. = 0,115  
 Control negativo 2      D.O. = 0,125  
 Muestra      D.O. = 0,508

$$\text{cut-off} = \frac{0,115 + 0,125}{2} + 0,150 = 0,270$$

$$\text{Índice de las Muestras} = \frac{0,508}{0,270} = 1,88$$

## 11.2. Resultado del test

Tabla 2: Evaluación del Índice de las Muestras

	negativo	valores límite	positivo
Índice de las Muestras	< 0,9	0,9 - 1,1	> 1,1

## 12. Limitaciones del método

El RIDASCREEN® Taenia solium IgG ELISA detecta anticuerpos IgG contra Taenia solium y sus hidátides. Se debe realizar cuando exista sospecha fundada de una infección con Taenia solium. Los resultados obtenidos siempre deben interpretarse de conjunto con el cuadro clínico y las demás conclusiones diagnósticas.

Las señales de anticuerpos son dependientes de la localización del ataque parasitario y pueden variar de un paciente a otro.

Un resultado negativo no excluye una infección. En un punto prematuro de la infección puede que el contenido de anticuerpo sea tan bajo, que el test dé por resultado valores negativos o límite. Si anamnesticamente existe sospecha fundada de infección, se debe realizar el test nuevamente después de dos a tres semanas con otra muestra de suero.

Se han reportado reacciones cruzadas con anticuerpos contra Equinococos.

Un resultado positivo no excluye la presencia de otros agentes infecciosos.

### 13. Características de rendimiento

Tabla 3: Varianza inter-ensayos (n=30)

<u>Varianza inter-ensayos</u>	<u>IgG</u>	
	DO	Coefficiente de variabilidad
Serum 1	4,79	5,6 %
Serum 2	3,70	6,0 %
Serum 3	2,29	12,4 %
Serum 4	0,35	n/a

Tabla 4: Varianza intra-ensayos (n=23)

<u>Varianza intra-ensayos</u>	<u>IgG</u>	
	DO	Coefficiente de variabilidad
Serum 1	4,92	3,2 %
Serum 2	3,69	4,1 %
Serum 3	1,54	4,3 %
Serum 4	0,33	n/a

Tabla 5: Sensibilidad y especificidad en comparación con otro ELISA comercial

	IgG
Sensibilidad	100,0%
Especificidad	97,3%

Tabla 6: Resultados del análisis de 200 sueros de donantes de sangre procedentes de un centro de donación de Alemania

	negativo	valores límite	positivo
200 Sueros	99,0%	0,0%	1,0%

## **Bibliografía**

1. Flisser, A. and Larralde, C., Immunodiagnosis of Parasitic Diseases, Vol. 1, Helminthic Diseases, Academic Press, pg. 109-161 (1986)
2. Gottstein et al., Trop. Med. Parasit., 38, 299-313 (1987)
3. Larralde, C. et al., Am. J. Trop. Med. Hyg., 35 (5), 965-973 (1986)
4. Tsang, V. et al., J. Infect. Dis., 159 (1), 50-59 (1989)