

PRUEBA RÁPIDA DE GIARDIA LAMBLIA (Heces)

[USO DESEADO]

La prueba rápida de *Giardia lamblia* (heces) es un Inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección del antígeno de *Giardia lamblia* en muestras de heces humanas.

[RESUMEN]

Las infecciones por parásitos siguen siendo un serio problema en todo el mundo. *Giardia lamblia* es el protozoario más común siendo el principal responsable de causar diarrea severa en humanos, particularmente en personas inmunocomprometidas. *Giardia lamblia* también conocida como *Giardia intestinalis*, es un parásito flagelado que coloniza y se reproduce en el intestino delgado, causando giardiasis. El parásito se adhiere al epitelio mediante un disco adhesivo ventral, y se reproduce por fusión binaria.

Un estudio epidemiológico, en 1991, demostró que la infección con *Giardia lamblia* incremento en los Estados Unidos con una prevalencia de alrededor de 6% en 178,000 muestras. Generalmente, la enfermedad pasa por una fase aguda corta seguida por una fase crónica. La infección por *G. lamblia* en fase aguda, es la causa de diarrea acuosa con eliminación de protozoarios. Durante la fase crónica las heces vuelven a ser normales, con emisión transitoria de quistes.

La presencia del parásito en la pared del epitelio duodenal es responsable de mala absorción. La desaparición de vellosidades y su atrofia conducen a problemas con el proceso digestivo a nivel del duodeno y el yeyuno, seguido por pérdida de peso y deshidratación. Sin embargo, la mayoría de las infecciones permanecen asintomáticas. El diagnóstico de *G. lamblia* es llevado a cabo bajo microscopio después de la flotación en sulfato de zinc o por inmunofluorescencia directa o indirecta, en muestras concentradas.

La prueba rápida para detectar *Giardia lamblia* en muestras fecales dentro de 10 minutos. Está basada en la detección de un coproantígeno de 65kDA, una glicoproteína que está presente en los quistes y protozoarios de *G. lamblia*.

[PRINCIPIO]

La prueba rápida de *Giardia lamblia* (heces) es basado en el uso de una tecnología de membrana con oro coloidal. Una membrana de nitrocelulosa es impregnada con anticuerpos dirigidos contra *Giardia lamblia*. La especificidad de la prueba es asegurada por un anticuerpo específico al antígeno de *Giardia lamblia* que es conjugado con oro coloidal. Este conjugado es impreso en la membrana.

La muestra fecal debe ser diluida en el buffer de extracción que es suministrado con la prueba. Cuando la muestra extraída entra en contacto con la tira, el conjugado migra con la muestra por difusión pasiva, el conjugado y la muestra entran en contacto con el anticuerpo anti- *G. lamblia* en la línea T. Si la muestra contiene antígenos *G. lamblia*, el complejo conjugado-antígeno permanecerá unido al reactivo anti- *G. lamblia* y una línea roja aparecerá. La solución continúa migrando para encontrar un segundo reactivo que se une al conjugado de control, produciendo así una línea roja en la línea control que confirma que la prueba esta funcionando correctamente. El resultado es visible después de los 10 minutos

[REACTIVOS]

La prueba contiene partículas conjugadas con anticuerpo anti-*Giardia lamblia* y anticuerpo anti-*Giardia lamblia* impregnado en la membrana.

[PRECAUCIONES]

- Sólo para uso profesional en diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad.
- La prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso.
- No comer, beber o fumar en el área donde se manejan las muestras o las pruebas.
- Manipular todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Tomar en cuenta las precauciones contra riesgos microbiológicos durante todos los procedimientos y seguir los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de los especímenes.
- Usar ropa protectora, como ropa de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando se analizan las muestras.
- La prueba debe desecharse de acuerdo con la normativa local.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente el resultado.

[ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD]

La prueba puede ser almacenada a temperatura ambiente o refrigerada (2-30°C). La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. La prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso. No congelar. No utilizar después de su fecha de caducidad.

[RECOLECCIÓN DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO]

1. La muestra fecal debe ser recolectada en un contenedor limpio, seco, no debe contener detergentes, conservantes ni medios de transporte.
2. Llevar los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso.
3. Si se van a enviar muestras, se deben empacar de acuerdo con la normativa federal que cubre el transporte de agente etiológicos.

[MATERIALES]

Materiales suministrados

- Casete de prueba
- Manual de instrucciones
- Tubo colector con buffer
- Gotero

Materiales requeridos, pero no suministrados

- Contenedores de recolección de muestras
- Temporizador

[INSTRUCCIONES DE USO]

Llevar la prueba, muestra y buffer a temperatura ambiente (15- 30 °C) antes de su uso.

Recolección de muestras fecales:

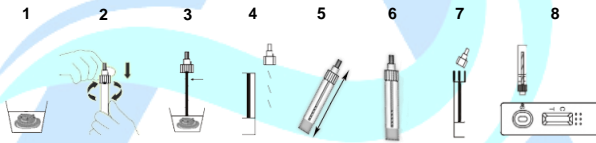
1. Colecte cantidad suficiente de heces (1-2 mL o 1-2g) en un contenedor de recolección de muestras limpio y seco, para obtener el máximo de agentes viables. Se obtendrán mejores resultados si el análisis se realiza dentro de las 6 horas posteriores a la recolección. La muestra recolectada puede almacenarse durante 3 días a 2-8 ° C, si no se prueba dentro de las 6 horas. Para almacenamientos largos la muestra debe ser mantenida a -20°C.

Procesamiento de muestras fecales:

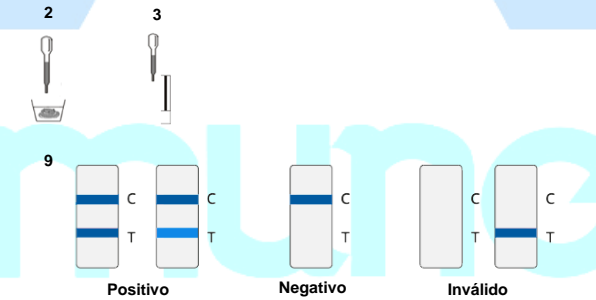
- Para muestras fecales líquidas:
 1. Sostenga el gotero verticalmente, aspire la muestra fecal.
 2. Transfiera 2 gotas (aproximadamente 80µl) dentro del tubo colector.
- Para muestras fecales sólidas:
 1. Desenrosque la tapa del tubo colector.
 2. Pinche la muestra con el tubo colector, aleatoriamente en la muestra fecal en al menos 3 sitios diferentes para recolectar aproximadamente 50 mg de heces (equivalente a ¼ de un chicharro).
 3. Atornille y apriete la tapa en el tubo colector
 4. Agite vigorosamente el tubo.
 5. Deje reposar 2 minutos.
 6. Desenrosque la punta del tapón del tubo colector
 7. Agregue 2 gotas (80µl) de la muestra en solución en el casete de la prueba. Iniciar temporizador.
 8. Interprete los resultados a los 10 minutos. No lea los resultados después de 20 minutos.

Nota: si las muestras no migran, centrifuge la muestra en solución contenida en el tubo colector. Recolecte 80µl del sobrenadante, dispense la muestra usando un nuevo casete de prueba.

Recolectar y procesar muestras solidas



Recolectar y procesar muestras líquidas



[INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS]

POSITIVO: * Dos líneas de color distintas aparecen. Una línea coloreada debe estar en la región de control (C) y otra línea coloreada debería estar en la región de prueba.

*NOTA: la intensidad del color en la región de la línea de prueba (T) variara dependiendo de la concentración del antígeno de *G. lamblia* presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de prueba (T) debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región de control (C). No aparece ninguna línea de color aparente en la región de prueba (T).

INVALIDO: La línea control no aparece. La causa más probable es cantidad de muestra insuficiente o procedimiento incorrecto. Repita el procedimiento con un nuevo casete de prueba. Si el problema persiste, deje de usar la prueba y contacte a su distribuidor.

[CONTROL DE CALIDAD]

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es un control interno del procedimiento. Se confirma cantidad suficiente de muestra, reacción de la membrana adecuada y que el procedimiento se realizó correctamente. No se suministran controles con esta prueba, sin embargo, se recomienda realizar controles positivos y negativos como buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y para verificar el comportamiento adecuado de la prueba.

[LIMITACIONES]

1. La prueba es cualitativa y no puede predecir la cantidad de antígeno presente en la muestra. El registro clínico y otros resultados de pruebas deben ser considerados para establecer un diagnóstico.
2. Un resultado positivo o negativo no descarta la posibilidad que otros patógenos puedan estar presentes.
3. Esta prueba, es una prueba de detección de fase aguda. Las muestras que son recolectadas después de esta fase, pueden contener niveles de antígeno por debajo del umbral de sensibilidad de la prueba.
4. Si la prueba es negativa y presenta síntomas se recomienda realizar pruebas adicionales como método alternativo.

[VALORES ESPERADOS]

En individuos sanos no afectados, la prueba rápida de *Giardia lamblia* puede dar un resultado negativo. La prueba rápida de *Giardia lamblia* ha sido comparada con el análisis microscópico tradicional. La correlación entre los dos sistemas es de 97.1%.

[CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO]

Sensibilidad y especificidad

El rendimiento de la prueba rápida en casete de *Giardia lamblia* (heces) fue evaluada en 278 pacientes, Se verificó el estado de la concentración de parásitos en las muestras (método Ritchie) y lectura microscópica en portaobjetos.

Método	Microscopio		Resultados totales	
	Resultados	Positivo		Negativo
Prueba rápida de <i>Giardia lamblia</i> (heces)	Positivo	58	5	63
	Negativo	3	212	215
Resultados totales		61	217	578

Sensibilidad relativa: 95,1% (IC del 95%: * 86,3% -99,0%)

Especificidad relativa: 97,7% (IC del 95%: * 94,7% -99,2%)

La exactitud relativa: 97,1% (IC del 95%: * 94,4% -98,7%)

* Intervalos de confianza

Repetibilidad y reproducibilidad

Para verificar la precisión dentro del lote (repetibilidad), la misma muestra positiva y la solución buffer se procesaron 3 veces en una prueba del mismo lote de producción bajo las mismas condiciones experimentales. Todos los resultados observados se confirmaron como se esperaban.

Para verificar la precisión dentro del lote (reproducibilidad), se procesaron algunas muestras positivas (muestra y buffer) en kits de tres lotes de producción diferentes.

La reactividad cruzada

La reactividad cruzada con los siguientes organismos se ha estudiado a 1,0x10⁷ organismos/ml. Los siguientes organismos resultaron negativos cuando se probaron con la prueba rápida de *Giardia lamblia* (heces):

<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Coxsackie</i>
<i>Cándida albicans</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Echovirus</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>E. coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Rotavirus</i>
<i>Salmonella infantis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Adenovirus</i>
<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shige flexneri</i>	<i>Corynebacterium diphtheria</i>

[REFERENCIAS]

1. Oxford textbook of Medicine. 1 (4thed). Oxford University Press. 2003. pp. 759-760. ISBN 0-19-262922-0
2. Johnston S.P. et al.; Evaluation of three comercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens; *Journal Of Clinical Microbiology*, p.623-626, Feb. 2003
3. Garcia L. et al.; Detection of *Giardiam lamblia* and *Cryptosporidium parvum* antigens in human fecal specimens using the ColorPac combination rapid solid-phase qualitative immunochromatographic assay; *Journal of Clinical Microbiology*, p. 1267-1268, Mar. 2000
4. Dylan R. Pillai and Kevin C. Kain.; ImmunochromatographicStup-based detection of Entamoeba histolytica- E. dispar and *Giardia lamblia* coproantigen; *Journal Of Clinical Microbiology*, p. 3017-3019. Sep. 1999
5. McIver C.J. et al.; Diagnosis of enteric pathogens in children with gastroenteritis; *Pathology* 33(3): 353-8. Aug. 2001
6. R.C. Andrew Thompson; Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential; *International Journal for parasitology*, 30: 1259-12678, 2000
7. MS Wolfe; Giardiasis; *Clinical Microbiology Review*, vol5: 93-100, 199200 its zoono-strips: an in-vitro immunochromatographic test for the detection of *Giardia lamblia* cyst in fecal specimen