

Prueba rápida para diarrea parasitaria

Entamoeba / Giardia / Crypto

EGC 0222/01
REF DMEGC01

Prueba rápida para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica*, antígenos de *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium* en heces humanas, como auxiliar en la identificación de patógenos causantes de diarrea. Solo para uso profesional *in vitro*.

Uso deseado

El cartucho de prueba rápida de *Entamoeba / Giardia / Crypto* (heces) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica*, antígenos de *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium* en heces humanas.

Resumen

Entamoeba histolytica es un parásito ameba anaeróbico, que forma parte del género *Entamoeba* (1). Infecta predominantemente a humanos y otros primates donde causan amibiasis. *E. histolytica* se estima que infecta a unos 50 millones de personas en todo el mundo. Anteriormente, se pensaba que el 10% de la población mundial estaba infectada, pero estas cifras son anteriores al reconocimiento de que al menos el 90% de estas infecciones se debían a una segunda especie, *E. dispar* (2). Los mamíferos como perros y gatos pueden infectarse transitoriamente, pero no se cree que contribuyan significativamente a la transmisión. *E. histolytica*, como su nombre indica (histolítico = destrucción de tejidos), es patógena. La infección puede ser asintomática o producir disentería amebiana o absceso hepático amebiano (1,3).

Giardia lamblia es el protozoo más común que se sabe que es responsable de una de las principales causas de diarrea severa en humanos, particularmente en personas inmunodeprimidas. Los estudios epidemiológicos, en 1991, mostraron que las infecciones por *Giardia* aumentaron en los Estados Unidos con una prevalencia de alrededor del 6% en 178,000 muestras (4). Generalmente, la enfermedad pasa por una fase aguda corta seguida de una fase crónica. La infección en la fase aguda por *G. lamblia* es la causa de la diarrea acuosa con eliminación de trofozoitos, principalmente. Las heces vuelven a ser normales, durante la fase crónica, con emisiones transitorias de quistes (5).

La presencia del parásito en la pared del epitelio duodenal es responsable de una malabsorción. La desaparición de las vellosidades y su atrofia provocan problemas en el proceso digestivo a nivel del duodeno y yeyuno, seguidos de pérdida de peso y deshidratación. Sin embargo, la mayoría de las infecciones permanecen asintomáticas. El diagnóstico de *G. lamblia* se lleva a cabo bajo microscopía después de la flotación en sulfato de zinc o por inmunofluorescencia directa o indirecta, en muestras no concentradas observadas por microscopía (6). Ahora están disponibles métodos de ELISA para la detección específica de quistes y/o trofozoitos. La detección de este parásito en aguas superficiales o de distribución se puede realizar mediante técnicas de PCR (7). La prueba se basa en la detección de un coproantígeno de 65 kDa, una glicoproteína presente en los quistes y trofozoitos de *G. lamblia*.

La criptosporidiosis es una enfermedad diarreica causada por parásitos microscópicos del género *Cryptosporidium*. Una vez que un animal o una persona se infecta, el parásito vive en el intestino y pasa a las heces. El parásito está protegido por una capa exterior que le permite sobrevivir fuera del cuerpo durante largos períodos de tiempo y lo hace muy resistente a los desinfectantes a base de cloro. Tanto la enfermedad como el parásito se conocen comúnmente como "Crypto". La enfermedad se puede propagar a través de la ingestión de agua contaminada o a través de la tos de un individuo infectado (8,9). Se puede propagar por vía fecal-oral como otros patógenos gastrointestinales.

Principio

El cartucho de prueba rápida de *Entamoeba / Giardia / Crypto* es un inmunoensayo de flujo lateral cualitativo para la detección de antígenos de *Entamoeba histolytica* y / o antígenos de *Giardia lamblia* y / o *Cryptosporidium* en heces humanas.

ENTAMOEBIA HISTOLYTICA

La prueba rápida de *Entamoeba histolytica* es un inmunoensayo de flujo lateral cualitativo para la detección del antígeno de *Entamoeba histolytica* en una muestra fecal humana. La membrana está recubierta con anticuerpo anti-*Entamoeba histolytica* en la región de la línea de prueba. Durante la prueba, la muestra reacciona con la partícula recubierta con un anticuerpo de *Entamoeba histolytica*. La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con el anticuerpo anti-*Entamoeba histolytica* en la membrana y generar una línea de color. La presencia de esta línea coloreada en la región de la línea de prueba indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Para que sirva como control de procedimiento, siempre aparecerá una línea de color en la región de la línea de control, lo que indica que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y que se ha producido la absorción de la membrana.

GIARDIA LAMBLIA

La prueba rápida de *Giardia lamblia* es un inmunoensayo de flujo lateral cualitativo para la detección del antígeno de *Giardia* en muestras fecales humanas. La membrana está recubierta con anticuerpos contra los antígenos de *Giardia* en la región de la línea de prueba. Durante la prueba, la muestra reacciona con la partícula recubierta con anticuerpos anti-*Giardia*, adheridos previamente en la prueba. La mezcla se mueve hacia arriba en la membrana por acción capilar. En el caso de un resultado positivo, los anticuerpos específicos presentes en la membrana reaccionarán con los conjugados de la mezcla y generarán líneas de color. Siempre aparecerá una línea de color en la región de la línea de control y servirá como verificación de que se agregó suficiente volumen, se obtuvo el flujo adecuado y como control interno para los reactivos.

CRYPTOSPORIDIUM

La prueba rápida de antígeno de *Cryptosporidium* es un inmunoensayo de flujo lateral cualitativo para la detección del antígeno de *Cryptosporidium* en heces humanas. La membrana está revestida con anticuerpos contra los antígenos de *Cryptosporidium* en la región de la línea de prueba. Durante la prueba, los antígenos de *Cryptosporidium*, si están presentes en la muestra, se unen a las partículas conjugadas de anticuerpos anti-*Cryptosporidium*, que se secan previamente en la prueba. La mezcla se mueve hacia arriba en la membrana por acción capilar. En el caso de un resultado positivo, los anticuerpos específicos presentes en la membrana reaccionarán con el complejo conjugado-antígeno y generarán una línea coloreada en la región de prueba. Siempre aparecerá una línea de color en la región de la línea de control y servirá como verificación de que se agregó suficiente volumen y se obtuvo el flujo adecuado y como control interno para los reactivos.

Reactivos

La prueba contiene anticuerpo anti-*Entamoeba histolytica* conjugado, partículas de anticuerpo anti-*Giardia lamblia*, partículas coloreadas conjugadas con anticuerpo anti-*Cryptosporidium* y anticuerpos anti-*Entamoeba histolytica*, anticuerpo anti-*Giardia lamblia*, anticuerpos anti-*Cryptosporidium* recubiertos en la membrana.

Precauciones

- Solo para uso profesional *in vitro*. No lo use después de la fecha de vencimiento.
- La prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras o los kits.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos en todos los procedimientos y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Use ropa protectora como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando se analicen las muestras.
- La prueba usada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.

Almacenamiento y estabilidad

El kit puede almacenarse a temperatura ambiente o refrigerarse (2-30 °C). El cartucho de prueba es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la bolsa sellada. El cartucho de prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso. NO CONGELAR. No lo use después de la fecha de vencimiento.

Recolección de muestras y almacenamiento

Las heces deben obtenerse en un recipiente limpio, seco e impermeable que no contenga detergentes, conservantes ni medios de transporte.

Deje que los reactivos necesarios alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos. Si las muestras deben enviarse, deben empaquetarse de acuerdo con las regulaciones locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

Recolecte una cantidad suficiente de heces (1-2 ml o 1-2 g) en un recipiente de recolección de muestras limpio y seco. Se obtendrán mejores resultados si el ensayo se realiza dentro de las 6 horas posteriores a la recolección. Las muestras recolectadas se pueden almacenar durante 3 días a 2-8 °C si no se analizan dentro de las 6 horas. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse a -20 °C.

Materiales

Materiales suministrados

- Prueba rápida de *Entamoeba / Giardia / Crypto*
- Manual de instrucciones
- Tubos de recolección de muestras con buffer de extracción
- Goteros

Materiales requeridos, pero no suministrados

- Recipientes de recolección de muestras
- Temporizador

Instrucciones de uso

Deje que la prueba, el hisopo de muestra, el buffer y/o los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar la prueba. Saque el cartucho de prueba de su bolsa sellada y colóquelo en una superficie limpia y nivelada. Para obtener un mejor resultado, el ensayo debe realizarse dentro de una hora después de abierta la bolsa de la prueba.

1. Para procesar muestras fecales:

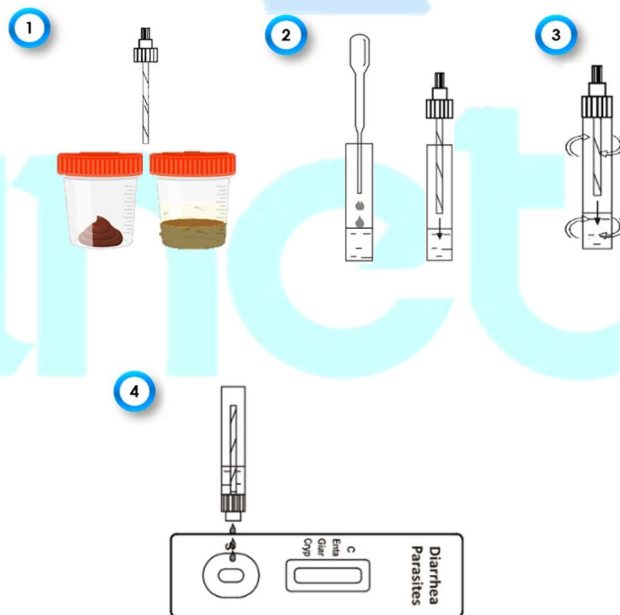
PARA MUESTRAS SÓLIDAS:

Desenrosque la tapa del tubo de recolección de muestras, luego tome al azar la muestra fecal al menos de 3 sitios diferentes con el aplicador de recolección de muestras en para recolectar aproximadamente 50 mg de heces (equivalente a 1/4 del tamaño de un guisante).

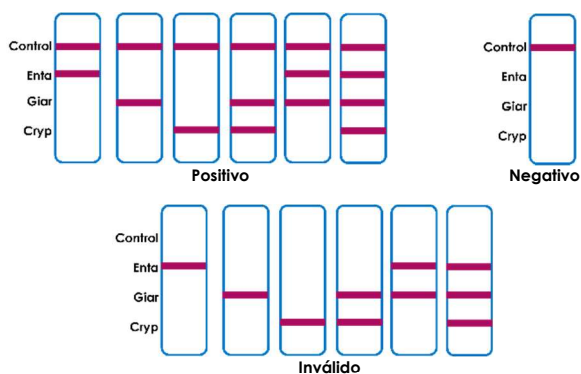
PARA MUESTRAS LÍQUIDAS:

Sostenga un gotero verticalmente, aspire las muestras fecales y luego transfiera 2 gotas de la muestra líquida (aproximadamente 80 µl) en el tubo de recolección que contiene el buffer de extracción.

2. Posicione el aplicador con la muestra en el tubo de recolección de muestras. Apriete la tapa.
3. Agite la muestra vigorosamente para mezclar la muestra y el buffer de extracción. Deje incubar el tubo de recolección durante 2 minutos. Sostenga el tubo de recolección de muestras en posición vertical y desenrosque la punta de la muestra.
4. Invierta el tubo de recolección y transfiera 3 gotas de la muestra extraída (aproximadamente 120 µl) a la zona de muestra (S) en el cartucho de prueba, luego inicie el cronómetro. Evite atrapar burbujas de aire en la zona de la muestra.
5. Lea los resultados 10 minutos después de dispensar la muestra. No lea resultados después de 20 minutos.



Interpretación de resultados



(Refiera a la imagen anterior)

POSITIVO ENTAMOEBIA: Aparecen dos líneas de color. Una línea de color debe estar en la zona de la línea de control (C) y otra línea de color aparente debe estar en la zona de la línea de prueba Ent.

POSITIVO GIARDIA: Aparecen dos líneas de color. Una línea de color debe estar en la zona de la línea de control (C) y otra línea de color aparente debe estar en la zona de la línea de prueba Giar.

POSITIVO CRYPTO: Aparecen dos líneas de color. Una línea de color debe estar en la zona de la línea de control (C) y otra línea de color aparente debe estar en la zona de la línea de prueba Cryp.

POSITIVO ENTAMOEBIA y GIARDIA: Aparecen tres líneas de colores. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y dos líneas aparecen a altura de las líneas de prueba Ent y Giar.

POSITIVO ENTAMOEBIA y CRYPTO: Aparecen tres líneas de colores. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y dos líneas aparecen a altura de las líneas de prueba Ent y Cryp.

POSITIVO GIARDIA y CRYPTO: Aparecen tres líneas de colores. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y dos líneas aparecen a altura de las líneas de prueba Giar y Cryp.

POSITIVO ENTAMOEBIA y GIARDIA y CRYPTO: Cuatro líneas de colores aparecen. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y tres líneas aparecen en las zonas de Ent, Giar y Cryp.

***NOTA:** La intensidad del color en la región de la línea de prueba variará según la concentración de antígenos de *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y antígenos de *Cryptosporidium* presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en las líneas de prueba deben ser considerados como resultado positivo.

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

INVÁLIDO: La línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables de la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor local.

Control de calidad

Los controles de procedimiento internos están incluidos en la prueba. Una línea coloreada que aparece en la región de control (C) es un control de procedimiento válido interno. Confirma un volumen de muestra suficiente y una técnica de procedimiento correcta.

Los estándares de control no se suministran con este kit; sin embargo, se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y verificar el desempeño adecuado de la prueba.

Limitaciones

- La prueba rápida de *Entamoeba / Giardia / Crypto* solo indicará la presencia de antígenos de *Entamoeba* y / o *Giardia lamblia* y / o *Cryptosporidium* en la muestra (detección cualitativa) y solo debe usarse para la detección de antígenos de *Entamoeba* y / o *Giardia lamblia* y / o antígenos de *Cryptosporidium* en muestras fecales. Esta prueba no puede determinar ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento de la concentración de antígeno.
- Un exceso de muestra puede provocar resultados inválidos. Diluya la muestra con el buffer y repita la prueba.
- No utilice muestras tratadas con soluciones que contengan formaldehído o sus derivados.
- Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar pruebas adicionales con otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye en ningún momento la posibilidad de *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium*.
- Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben considerarse junto con otra información clínica disponible para el médico.

Valores esperados

La prueba rápida de *Entamoeba / Giardia / Crypto* se ha comparado con otra prueba rápida. La correlación de *Entamoeba histolytica* entre los dos sistemas es del 99,0%. La correlación de *Giardia lamblia* entre los dos sistemas es del 96,9%. La correlación de *Cryptosporidium* entre los dos sistemas es del 97,8%.

Características de presentación

Sensibilidad - Especificidad

Se evaluó la prueba rápida de *Entamoeba / Giardia / Crypto* (heces) en 288 pacientes para *Entamoeba histolytica*.

Método	Otra prueba rápida		Total de resultados
	RESULTADO	Positivo (+)	
Prueba rápida de <i>Entamoeba/Giardia/Crypto</i> (heces)	Positivo (+)	42	44
	Negativo (-)	1	243
Total de Resultados		43	245

Sensibilidad relativa: 97,7% (IC 95% *: 87,7% - 99,9%);
Especificidad relativa: 99,2% (IC 95% *: 97,1% - 99,9%);
Precisión: 99,0% (IC 95% *: 97,0% - 99,8%).

*Intervalos de confianza

Se evaluó la prueba rápida de *Entamoeba / Giardia / Crypto* (heces) en 318 pacientes para *Giardia lamblia*.

Método	Otra prueba rápida		Total de resultados
	RESULTADO	Positivo (+)	
Prueba rápida de <i>Entamoeba / Giardia / Crypto</i> (heces)	Positivo (+)	69	6
	Negativo (-)	4	239
Total de Resultados		73	245

Sensibilidad relativa: 94,5% (IC 95% *: 86,6% - 98,5%);
Especificidad relativa: 97,6% (IC 95% *: 94,7% - 99,1%);
Precisión: 96,9% (IC 95% *: 94,3% - 98,5%).

*Intervalos de confianza

Se evaluó el cartucho de prueba rápida de *Entamoeba / Giardia / Crypto* (heces) en 275 pacientes para *Cryptosporidium*.

Método	Otra prueba rápida		Total de resultados
	RESULTADO	Positivo (+)	
Prueba rápida de <i>Entamoeba / Giardia / Crypto</i> (heces)	Positivo (+)	29	5
	Negativo (-)	1	240
Total de Resultados		30	250

Sensibilidad relativa: 96,7% (IC 95% *: 82,8% - 99,9%);
Especificidad relativa: 98,0% (IC 95% *: 95,3% - 99,3%);
Precisión: 97,8% (IC 95% *: 95,3% - 99,2%).

*Intervalos de confianza

Repetibilidad y reproducibilidad

Para comprobar la precisión intra-lote (repetibilidad), las mismas muestras positivas y negativas se procesaron 3 veces en kits del mismo lote de producción en las mismas condiciones experimentales. Todos los resultados observados se confirmaron como se esperaba.

Para comprobar la precisión (reproducibilidad) entre lotes, se procesaron las mismas muestras (positivas y negativas) en kits de tres lotes de producción diferentes. Todos los resultados se confirmaron como se esperaba.

Reactividad cruzada

La reactividad cruzada se evaluó con los siguientes organismos a una concentración de $1,0 \times 10^7$ células/mL. Los siguientes organismos resultaron negativos cuando se probaron con la prueba rápida de *Entamoeba / Giardia / Crypto* (heces):

Helicobacter pylori
Clostridium difficile
Salmonella infantis
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Shigella dysenteriae
Escherichia coli

Referencias

- Ryan KJ, Ray CG, eds. (2004). Sherris Medical Microbiology (4th ed.). McGraw Hill. pp.733-8.
- Weekly Epidemiological Record. 72(14): 97-9. April 1997.
- Nespolo, Benoît; Betz, Valérie; Brunet, Julie; Gagnard, Jean-Charles; Krummel, Yves; Hansmann, Yves; Hannedouche, Thierry; Christmann, Daniel; Pfaff, Alexander W.; Filisetti, Denis; Pesson, Bernard; Abou-Baccar, Ahmed; Candolfi, Ermanno (2015). "First case of amebic liver abscess 22 years after the first occurrence".
- Johnston S.P. et al.; Evaluation of three commercial assays for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* organisms in fecal specimens; Journal Of Clinical Microbiology, p.623-626, Feb. 2003.
- Hill DR, Nash TE. Intestinal Flagellate and Ciliate Infections. In: Guerrant RL, Walker DH, Weller PF, eds. Tropical Infectious Diseases. Principles, Pathogens & Practice. 2nd ed. Elsevier, Philadelphia. 2006:984-8.
- Copue S, Delabre K, Pouillot R et al. Detection of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Enterocytozoon bienersi* in surface water, including recreational areas: a one year prospective study; FEMS Immunol Med Microbiol. 2006; 47:351-9.
- Stuart JM, Orr HJ, Warburton FG, et al. Risk Factors for Sporadic Giardiasis: A Case-Control Study in Southwestern England. Emerg. Infect Dis. 2003; 9, 2.
- Hill DR, Nash TE. Intestinal Flagellate and Ciliate Infections. In: Guerrant RL, Walker DH, Weller PF, eds. Tropical Infectious Diseases. Principles, Pathogens & Practice. 2nd ed. Elsevier, Philadelphia. 2006:984-8.
- Copue S, Delabre K, Pouillot R et al. Detection of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Enterocytozoon bienersi* in surface water, including recreational areas: a one year prospective study; FEMS Immunol Med Microbiol. 2006; 47:351-9.

Índice de símbolos

	Consultar manual de uso		Caducidad
	Solo para evaluación de desempeño in vitro		Número de catálogo
	Almacenar entre 2 - 30 °C		Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar