

Kit *Entamoeba histolytica* + *Giardia lamblia*

(heces)
KEG 0725/01
REF DMENG01

Uso deseado

El kit *Entamoeba histolytica* + *Giardia lamblia* (heces) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia* en muestras de heces humanas.

Resumen

La infección por *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*) se le conoce como amebiasis, dicho parásito está presente en todo el planeta [1]. La *E. histolytica* es un protozoo que se puede transmitir de persona a persona por vía fecal-oral o por el consumo de un solo quiste (forma resistente), mismo que puede sobrevivir en el agua, suelo húmedo, vegetación y heces según la temperatura ambiental. La infección intestinal por la *E. histolytica* suele ser frecuente en adultos jóvenes y por lo general no se presenta ningún síntoma, a estos casos se le denominan como forma no invasiva. No obstante, esta la forma invasiva y se produce después de un periodo de incubación de dos a cuatro semanas, resultando en una invasión de la mucosa intestinal provocando una diarrea simple con moco y sangre o síndrome disentérico con dolor abdominal, aunque también puede evolucionar a una forma crónica u otra con mayores complicaciones [2].

La giardiasis es una enfermedad causada por el parásito *Giardia lamblia* (*G. lamblia*), este patógeno es uno de los responsables más comunes de provocar diarrea en humanos y otros mamíferos en todo el mundo. *G. lamblia* es uno de los protozoos flagelados intestinales más prevalentes del ser humano. Este parásito se transmite por vía fecal-oral a través de la ingestión directa o indirecta de quistes infecciosos. El periodo de incubación varía de 9 a 15 días después de la ingestión de los quistes. Los síntomas de infección van desde la ausencia de síntomas hasta diarrea acuosa aguda, náuseas, dolor epigástrico y pérdida de peso. En los países en desarrollo, existe una prevalencia e incidencia de infección muy altas, los datos sugieren que la giardiasis crónica puede provocar un retraso del crecimiento a largo plazo [3, 4]. El diagnóstico correcto de la giardiasis es importante para el tratamiento y la prevención de enfermedades, este consiste principalmente en la búsqueda e identificación de quistes microscópicos en muestras de heces, no obstante, hoy en día existen otros métodos como los ensayo inmunológico y biología molecular, mismos que se utilizan para fines de diagnóstico o investigación en países desarrollados [5,6].

Principio

El kit *Entamoeba histolytica* – *Giardia lamblia* para la detección cualitativa de antígenos *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia* en muestras de heces humanas es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. El kit consta de dos cartuchos, lo cual cada uno contiene una membrana dividida en dos regiones: una de prueba 'T' que tiene impreso anticuerpos de captura y una de control 'C' impreso con anti-ratón. La membrana también posee un conjugado conformado por partículas de oro coloidal. Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' de ambos cartuchos junto con el reactivo de corrimiento, esta migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de antígeno *E. histolytica* o *G. lamblia* por debajo del límite de detección no se formará el complejo antígeno-anticuerpo evitando la aparición de una línea de color en la región de prueba (T) de su respectivo cartucho, esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de antígeno *E. histolytica* o *G. lamblia* por encima del límite de detección se formará el complejo antígeno-anticuerpo generando la aparición de una línea de color en la región de prueba (T) de su respectivo cartucho, esto indica un resultado positivo. Cada cartucho incluye un control (C), por lo que, siempre debe de aparecer una línea de color en dicha región, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó exitosamente.

Reactivos

La prueba contiene un conjugado de partículas de oro coloidal, anticuerpos de captura anti-*E. histolytica* o anti- *G. lamblia* y anticuerpos anti-ratón.

Precauciones

Lea toda la información de este instructivo antes de realizar la prueba:

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipular todas las muestras como si tuvieran agentes infecciosos.
- No utilizar la prueba después de la fecha de caducidad.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilizar la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilizar bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones aplicables.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- No mezclar componentes de diferentes lotes.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en su bolsa sellada a temperatura ambiente (15-30°C). Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

Materiales

Suministrados:

- Prueba rápida en cartucho para *E. histolytica*
- Prueba rápida en cartucho para *G. lamblia*
- Tubo colector con solución de corrimiento (Buffer)
- Instructivo de uso
- Gotero

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador
- Contenedor para muestra (s)
- Opcionales:
 - Centrifugadora

Recolección de muestra

Realice los pasos que se describen a continuación:

1. Coloque entre 1-2 mL o 1-2 gramos de heces (equivalente al tamaño de una nuez) en un contenedor de recolección de muestras que esté estéril y seco. Nota: Para obtener mejores resultados realice el análisis de la muestra dentro de las 6 horas posteriores a su recolección.

Almacenamiento y estabilidad de la muestra

- La muestra debe ser recolectada y almacenada en un recipiente estéril, seco e impermeable sin detergentes, conservadores o medios de transporte.
- No dejar las muestras a temperatura ambiente durante más de 3 horas.
- Almacenar la muestra por un máximo de 3 días a una temperatura de 2-8 °C.
- Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben almacenarse por debajo de los -20 °C.

Instrucciones de uso

Permita que la prueba, muestra y solución de corrimiento alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar el ensayo. Retire el cartucho de la bolsa sellada y utilícelo inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación:

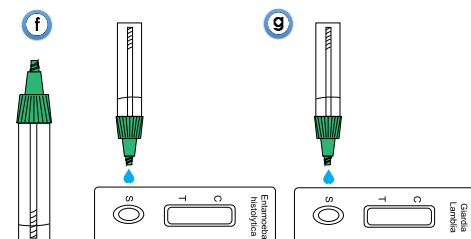
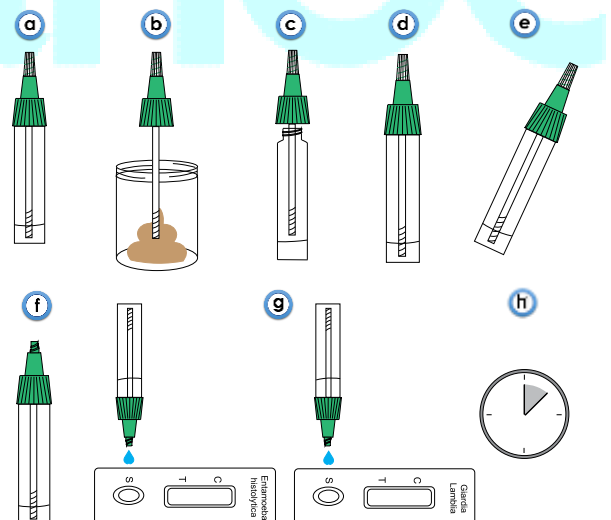
Muestras sólidas

- a) Tome el tubo colector con solución de corrimiento (Buffer) y desenrosque la tapa.
- b) Pinche la muestra con el aplicador del tubo colector, de forma aleatoria por al menos 3 sitios diferentes de la muestra hasta recolectar aproximadamente 50 mg de heces (equivalente a ¼ de un chicharro).
- c) Una vez obtenida la cantidad de muestra suficiente, regrese el aplicador al tubo colector.
- d) Enrosque la tapa hasta cerrar el tubo perfectamente.
- e) Agite vigorosamente el tubo.
- f) Deje reposar el tubo por dos minutos, después retire la punta del tubo colector (tapa).
- g) Agregue 2 gotas (aproximadamente 80 µl) de la muestra en el pozo 'S' de los cartuchos y programe un temporizador por 5 minutos. Nota: Si no se visualiza la migración de la muestra en la tira del cartucho, centrifugue la muestra con todo y solución, después repita el paso g.
- h) Lea el resultado, una vez haya finalizado el temporizador. Nota: No interprete el resultado después de 10 minutos.

Muestras líquidas

- A. Con ayuda de un gotero (incluido en el kit), sosténgalo de forma vertical con la punta apuntando a la muestra fecal, apriete el bulbo y recolecte la muestra.
- B. Tome el tubo colector con solución de corrimiento y desenrosque la tapa.
- C. Transfiera 2 gotas de la muestra (aproximadamente 80 µl) al tubo colector con solución de corrimiento (incluido en el kit) y ciérralo perfectamente.
- D. Agite vigorosamente el tubo.
- E. Agregue 2 gotas (aproximadamente 80 µl) de la muestra en el pozo 'S' de los cartuchos y programe un temporizador por 5 minutos. Lea el resultado, una vez haya finalizado el temporizador. Nota: No interprete el resultado después de 10 minutos.

Muestras sólidas



IC: Intervalo de Confianza

G. lamblia

Se utilizó la prueba rápida *Giardia lamblia* (heces) para procesar un total de 278 muestras, de las cuales solo 66 procedían de personas con síntomas relacionados a una infección por *G. lamblia*. Los resultados de las 278 muestras fueron confirmados por medio del método de Richie y análisis de diapositivas microscópicas, en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Prueba rápida <i>G. lamblia</i>	Método		Prueba comercial		Resultados totales
	Resultados	Positivo	Negativo	Resultados totales	
	Positivo	58	5	63	
	Negativo	3	212	215	
Resultados totales		61	217	278	

Sensibilidad relativa: 95.10% (95% IC: 86.30%-99.00%)
 Especificidad relativa: 97.70% (95% IC: 94.70%-99.20%)
 Precisión relativa: 97.10% (95% IC: 94.40%-98.70%)
 IC: Intervalo de Confianza

Precisión Intra-Ensayo

La repetibilidad de cada prueba fue determinada utilizando 20 réplicas por cada una de las siguientes muestras: una negativa, tres positivas (baja, media y alta). Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Inter-Ensayo

La reproducibilidad de cada prueba fue determinada mediante 10 réplicas de 3 lotes diferentes realizados en 2 días para cada una de las siguientes muestras: una negativa, tres positivas (baja, media y alta). Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Reactividad cruzada

Se analizaron los siguientes patógenos gastrointestinales con el Kit *Entamoeba histolytica* + *Giardia lamblia* (heces), se realizaron 20 réplicas por cada uno, se incluyó una muestra positiva y negativa. Ninguna presentó reactividad cruzada.

- *Campylobacter coli*
- *Campylobacter jejuni*
- *Escherichia coli* O157:H7
- *Helicobacter pylori*
- *Salmonella enteritidis*
- *Salmonella paratyphi*
- *Salmonella typhimurium*
- *Salmonella typhi*
- *Clostridium difficile*
- *Staphylococcus aureus*
- *Yersinia enterocolitica*
- *Leishmania monocytogene*

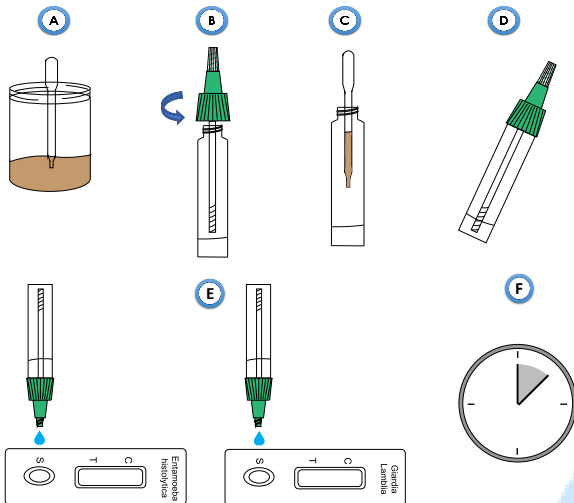
Referencias

[1]. Chelsea, M. (2022). Amebiasis. Manual MSD.
 [2]. INSS. (2022). *Entamoeba histolytica*.
 [3]. Adán, RD (2001). Biología de *Giardia lamblia*. Revisión de microbiología clínica, 14 (3), 447-475. <https://journals.asm.org/doi/10.1128/CMR.14.3.447-475.2001>.
 [4]. Hooshyar H, Rostamkhani P, Arbabi M, Delavari M. *Giardia lamblia* infection: review of current diagnostic strategies. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2019 Winter;12(1):3-12. PMID: 30949313; PMCID: PMC6441489. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6441489/>.
 [5]. Murillo-Zavala, A. M., Zavala-Hoppe, A. N., Caicedo-Falconez, J. N., & Acosta-Quiroz, A. E. (2021). Epidemiología y diagnóstico en Latinoamérica de *Giardia Lamblia*. Polo del Conocimiento, 6(3), 2556-2590. <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/2705>.
 [6]. Cernikova L, Faso C, Hehl AB (2018) Five facts about *Giardia lamblia*. PLoS Pathog 14(9): e1007250. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007250>.

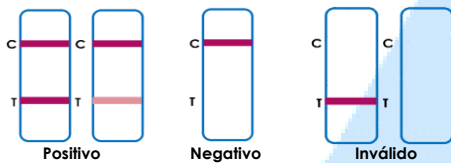
Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso		Caducidad
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>		Número de catálogo
	Almacenar entre 15 - 30 °C		Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar
	Uso para investigación		

Muestras líquidas



Interpretación de resultados



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO: Aparece una línea de color en la región C y otra línea de color en la región T. Nota: La intensidad del color de la línea en la región T puede variar, por lo que, cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región C. No aparece ninguna línea de color en la región T.

INVÁLIDO: La línea de la región C no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, suelen ser las razones más probables de la falla de dicha línea. Revise el procedimiento y repita la prueba, si el problema persiste deje de usar el cartucho inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. Una línea de color aparece en la región C confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos ni negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

Limitaciones

1. Como con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben considerarse con otra información clínica disponible para el médico.
2. Si el resultado de la prueba es negativo y la sintomatología persiste, se sugieren pruebas de seguimiento adicionales con otros métodos clínicos.
3. El Kit *Entamoeba histolytica* + *Giardia lamblia* (heces) es solo para diagnóstico *in vitro*.
4. El resultado proporcionado solamente es cualitativo.

Valores esperados

El Kit *Entamoeba histolytica* + *Giardia lamblia* (heces) para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia* en muestras de heces humanas fue comparada con una prueba comercial para *E. histolytica* y otra para *G. lamblia*, se obtuvo una precisión global de 97%.

Características de desempeño

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

E. histolytica

Se utilizó la prueba rápida en cartucho para *E. histolytica* (heces) para procesar un total de 142 muestras, de las cuales solo 24 procedían de personas con síntomas relacionados a una infección por *E. histolytica*. Los resultados de las 142 muestras fueron confirmados por medio de una prueba líder de *E. histolytica* disponible en el mercado, en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Prueba rápida <i>E. histolytica</i>	Método		Prueba comercial		Resultados totales
	Resultados	Positivo	Negativo	Resultados totales	
	Positivo	22	1	23	
	Negativo	1	118	119	
Resultados totales		23	119	142	

Sensibilidad relativa: 95.70% (95% IC: 90.93%-97.97%)
 Especificidad relativa: 99.20% (95% IC: 95.90%-99.83%)
 Precisión relativa: 98.60% (95% IC: 95.01%-99.61%)

