

MULTIPARÁSITOS en deposiciones

Catálogo

Presentación

Método Inmunocromatográfico Rápido para detectar ENTAMOEBIA + GIARDIA + CRYPTO en deposiciones

751010

10 det.

Uso Indicado

Test rápido combinado de un solo paso para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium* en heces humanas.

Resumen

Entamoeba histolytica es un parásito anaeróbico amebozoo, parte del género Entamoeba. Principalmente infecta a los humanos y otros primates causando amebiasis. Se estima que la *E. histolytica* infecta a alrededor de 50 millones de personas en el mundo. Previamente se pensaba que un 10% de la población mundial estaba infectada, pero estos cálculos son anteriores al reconocimiento de que por lo menos el 90% de estas infecciones se debían a una segunda especie: *E. dispar*. Los mamíferos, tales como los perros y los gatos se pueden infectar brevemente, pero no se piensa que contribuyen significativamente con la transmisión. *E. histolytica*, como su nombre lo sugiere (histolítica=destructora de tejido), es una infección patógena que puede ser asintomática o puede llevar a una disentería amebiana o a absceso hepático amebiano.

Giardia lamblia es un protozoo más comúnmente conocido ser el responsable de una de las principales causas de diarrea severa en los humanos, particularmente en las personas inmunodeprimidas. Los estudios epidemiológicos de 1991, demostraron que las infecciones por *Giardia* aumentaron en USA con una prevalencia de alrededor de 6% sobre 178.000 muestras. Generalmente la enfermedad pasa por una fase aguda corta seguida de una fase crónica. La infección por *Giardia lamblia*, en la fase aguda, es la causa de diarreas acuosas principalmente con eliminación de trofozoítos. Las heces se hacen normales otra vez, durante la fase crónica, con emisiones transitorias de quistes.

La presencia del parásito sobre la pared del epitelio duodenal es responsable de una malabsorción. La desaparición de las vellosidades y su atrofia, lleva a problemas con el proceso digestivo a nivel del duodeno y del yeyuno, seguido por 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 una flotación sobre sulfato de Zinc. O por inmunofluorescencia directa o indirecta, o muestras no concentradas extendida sobre un portaobjeto. En la actualidad están disponibles mas y mas métodos ELISA para la detección específica de quistes y/o trofozoítos. La detección de estos

parásitos en superficie o su distribución en agua puede ser llevada a cabo por técnicas de tipo PCR. El test se basa en la detección de un coproantígeno 65-kDA, una glicoproteína que está presente en los quistes y trofozoítos de *G. lamblia*.

Cryptosporidiosis es una enfermedad diarreica causada por parásitos microscópicos del género *Cryptosporidium*. Una vez que una persona o un animal son infectados, el parásito vive en el intestino y pasa a las heces. El parásito está protegido por una capa externa que le permite sobrevivir fuera del cuerpo por largos periodos de tiempo y que lo hace muy resistente a los desinfectantes basados en Cloro. Ambos, la enfermedad y el parásito son conocidos comúnmente como "Crypto". La enfermedad se puede difundir través de la ingestión de aguas contaminadas o a través de vómitos explosivos de un individuo contaminado. Se puede propagar a través de la ruta fecal-oral como otros patógenos gastrointestinales.

Principio

El Test Combinado de parásitos comprende 3 partes y los detalles para cada una se entregan a continuación:

El Test Rápido para Entamoeba histolytica en deposiciones (lado izquierdo de la placa) es un inmunoanálisis cualitativo de flujo lateral cualitativo para la detección de antígeno de *Entamoeba histolytica* en muestras de heces humanas. El análisis usa anticuerpos monoclonales específicos para antígenos de **Entamoeba histolytica** que recubren la membrana de prueba. Durante el test, la muestra de deposiciones reacciona con los anticuerpos formando un conjugado. La mezcla fluye hacia arriba por capilaridad sobre la membrana cromatográfica para reaccionar con los anticuerpos contra *E. histolytica* sobre la membrana y genera una línea coloreada a nivel de la zona T. Mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Como procedimiento de control, siempre aparecerá una línea coloreada en la zona de control (C), lo cual indica que se ha agregado un volumen adecuado de muestra y que ha ocurrido reacción en la membrana.

El Test Rápido para Giardia Lamblia (en deposiciones) (tira del medio de la placa) es un inmunoanálisis cualitativo, de flujo lateral, que sirve para la detección de *G.lamblia* en muestras de deposiciones humanas. La membrana está recubierta con anticuerpos contra antígenos de *G. lamblia* sobre la región de la línea Test. Durante el análisis, la muestra reacciona con partículas recubiertas con anticuerpos anti-*Giardia lamblia*. La mezcla migra cromatográficamente hacia arriba por capilaridad para reaccionar

con los anticuerpos colocados en las líneas test (T) y generar una línea coloreada. La presencia de esta línea en la región Test indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo.

Para servir como un proceso de control, una línea coloreada siempre aparecerá en la banda de control, indicando que un volumen apropiado del espécimen ha sido incluido y que ha ocurrido la reacción en la membrana.

El Test Rápido para Cryptosporidium (lado derecho de la placa) es un inmunoanálisis cualitativo de flujo lateral para la detección de antígenos del *Cryptosporidium* en muestras de heces humanas. En este test la membrana está recubierta con anticuerpos anti-*Cryptosporidium*. Durante el test, la muestra de deposiciones reacciona con las partículas recubiertas de anticuerpos conjugados. La mezcla fluye hacia arriba por capilaridad sobre la membrana cromatográfica para reaccionar con los anticuerpos anti-*Cryptosporidium* sobre la membrana en la región Test y genera una línea coloreada en la región lineal Test. La presencia de esta línea significa un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo.

Para servir como un proceso de control, una línea coloreada siempre aparecerá en la banda de control, indicando que un volumen apropiado del espécimen ha sido incluido y que ha ocurrido la reacción en la membrana.

Composición del Kit

--- 10 U Tests Packs, en cuyo interior vienen:

- 1 cassette con 3 secciones:

Tira del Lado Izquierdo: contiene partículas recubiertas con 2 anticuerpos monoclonales para antígenos de *Entamoeba histolytica* recubriendo la membrana y los mismos anticuerpos en la región lineal Test.

Tira del medio: contiene partículas recubiertas con anticuerpos anti-*Giardia lamblia* recubriendo la membrana. El test contiene además, anticuerpos anti-*Giardia lamblia* en la región de la línea Test.

Tira del Lado Derecho: contiene partículas recubiertas con anticuerpos anti-*Cryptosporidium* recubriendo la membrana y anticuerpos anti-*Cryptosporidium* en la región lineal Test

- 1 gotario plástico desechable

Estabilidad: El test es estable hasta la fecha de expiración a (4 - 30) °C

.:¡ NO CONGELAR!!

--- 10 U Frascos con 2 ml de buffer de extracción.

MULTIPARÁSITOS en deposiciones

Catálogo

Presentación

Método Inmunocromatográfico Rápido para detectar ENTAMOEBIA + GIARDIA + CRYPTO en deposiciones

751010

10 det.

Precauciones

- No fumar, comer o beber en áreas donde se manejen las muestras o material del kit.
- Solo para uso profesional *in vitro*. No usar fuera de la fecha de expiración
- Usar ropa protectora tales como delantales de laboratorio, guantes desechables o protección a los ojos cuando se están analizando las muestras.
- El test debe permanecer en su bolsa sellada hasta su uso. No usar el test si la bolsa está dañada.
- Tratar todo el material como si fuese potencialmente peligroso y manejarlo de la misma manera como un agente infeccioso.
- El test usado se debe descartar de acuerdo a las regulaciones locales.
- La humedad y la temperatura pueden afectar los resultados adversamente.

Recolección y Preparación de la Muestra

1- Las muestras de heces, deben ser recolectadas en un recipiente limpio y seco, que no contenga detergentes, preservantes o medios de transporte.

2- Para recolectar muestras fecales:

Recolectar suficiente cantidad de heces (1-2 ml o 1-2 g) en un envase colector de muestras limpio y seco para obtener una cantidad importante de patógenos (si estuvieran presentes). Los mejores resultados se obtienen si el examen se realiza en las 6 hrs. siguientes a la recolección de la muestra. Las muestras recolectadas pueden ser almacenadas por 3 días a 2-8 °C. Si no se analizan durante las 6 primeras horas, se deben mantener a -20 °C.

Procedimiento

Llevar muestras, cassettes y buffer a T° ambiente.

1A.- Para muestras sólidas: desenroscar la tapa del tubo recolector y con el aplicador, **clavar al azar en la muestra fecal en al menos 3 sitios diferentes** (recolectar aprox. 50 mg de heces). Volver a tapar el frasco.

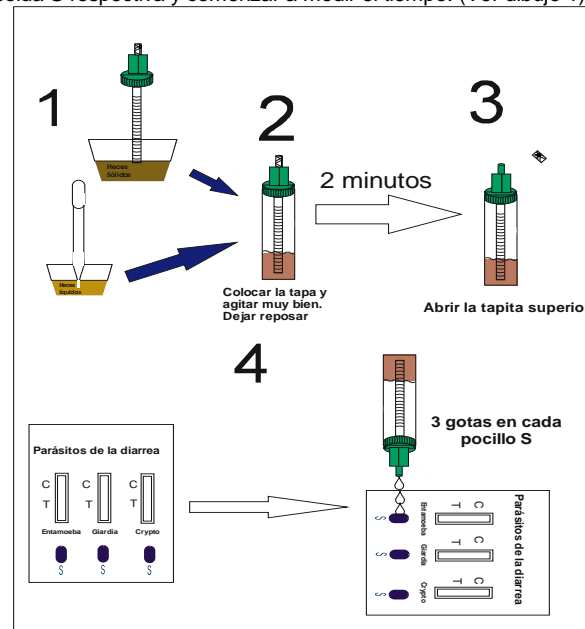
1B.- Para muestras líquidas: Sostener verticalmente el gotario y transferir **2 gotas (aprox. 50 µl)** dentro del tubo recolector de muestra. Cerrar.

Tapar bien apretado el tubo de recolección con su tapa y agitar vigorosamente para mezclar la muestra con el buffer de extracción. Dejar reposar 1-2 min. Para permitir que las partículas grandes sedimenten en el fondo del tubo.

2. Antes de abrir la bolsa metálica, dejar que tome la temperatura ambiente. Sacar el test cassette y usarlo dentro de 1 hora. Se obtienen mejores resultados si el test se realiza inmediatamente después de abrir la bolsa metálica

3.- Sostener el tubo recolector hacia arriba y abrir la tapita superior. Invertirlo y transferir **3 gotas completas** de la muestra extraída (aprox. 120 µL), a cada pozo de muestra (3 pozos) **S** del cassette. - Esperar hasta **10 minutos** (no más allá de 20'). Interpretar los resultados. (ver Dibujo 1)

NOTA: Si la muestra no migra (por presencia de partículas), centrifugar la muestra extraída contenida en el vial del buffer de extracción. Recolectar 120 µl del sobrenadante y dispensarlo en la celda **S** respectiva y comenzar a medir el tiempo. (Ver dibujo 1)



DIBUJO 1

Interpretación de los resultados

Todas las interpretaciones se deben llevar a cabo dependiendo de a qué ventana corresponde cada tipo de Parásito

Negativo: aparece una sola banda de color Rosado en la ventanilla **C**. Ninguna en las regiones **T**. Además, esto significa una correcta ejecución de la técnica.

Positivos:

1.- Entamoeba histolytica: Lado izquierdo de la placa:

Positivo: aparecen 2 líneas coloreadas. Una, debería estar en la región (**C**) y otra en la región (**T**).

2.- Giardia lamblia: banda media de la placa

Positivo: se observan dos bandas de color Rosado. Una en la región **C** y otra en la región (**T**)

3.- Crystosporidium Positivo: lado Derecho de la placa

Aparecen 2 líneas coloreadas claras. Una línea en la región Control (**C**) y otra línea coloreada en la región (**T**).

Nota: Para las 3 ventanas, la intensidad de color en la región Test (**T**) variará dependiendo de la concentración de antígenos parasitarios presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier sombra de color en la línea de prueba en la región Test (**T**) debiera considerarse positiva.

No válido: Si no aparece banda de color en **C**, aun cuando aparezcan en las regiones **T**, el test debe considerarse nulo; ya sea por error o por deterioro del mismo. En este caso el ensayo debe repetirse. (Ver dibujos anexos).

Limitaciones

- Este test sirve para uso de diagnóstico *in vitro* solamente. Se debe usar solo para la detección de *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y *Crystosporidium* en muestras de deposiciones humanas. Este es un test cualitativo con el que no se puede determinar un valor cuantitativo ni la velocidad de aumento de la concentración de *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y *Crystosporidium*.
- Este test solo indica la presencia de *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y *Crystosporidium* en la muestra y no se debe usar como único criterio para conformarse de que el

MULTIPARÁSITOS en deposiciones

Catálogo

Presentación

Método Inmunocromatográfico Rápido para detectar ENTAMOEBIA + GIARDIA + CRYPTO en deposiciones

751010

10 det.

Entamoeba histolytica, *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium* sean el agente etiológico de la diarrea.

- Un exceso de muestra puede causar resultados erróneos. Diluir la muestra con el buffer y repetir el test
- No usar muestras tratadas con soluciones que contengan formaldehído o sus derivados
- Si el resultado del test es negativo y persisten los síntomas, se recomienda usar otros métodos clínicos adicionales. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de una infección por *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* y *Cryptosporidium* con baja concentración de los parásitos.
- Como en cualquier test de diagnóstico todos los resultados se deben considerar junto a otra información clínica disponible para el médico.

Valores esperados

El presente test ha sido comparado con otros tests rápidos, cuya correlación veremos a continuación.

Características de Realización Sensibilidad, Especificidad y Exactitud

1. *Entamoeba histolytica*:

Se analizaron 288 muestras clínicas de pacientes con *E. histolytica* y se compararon con otro método rápido.

METODO		Otro Test Rápido		RESULT. TOTAL
Test Rápido actual	RESULTADOS	(+)	(-)	
	(+)	42	2	44
	(-)	1	243	244
RESULTADO TOTAL		43	245	288

Sensibilidad relativa: 97,7 % (87,7%-99,9%)
Especificidad relativa: 99,2% (97,1%-99,9%)
Exactitud Relativa: 99,0% (97,0%-99,8%)

2. *Giardia lamblia*

Se analizaron 318 pacientes con infección de *G. lamblia*

METODO		Otro Test Rápido		RESULT. TOTAL
Test rápido actual	RESULTADOS	(+)	(-)	
	(+)	69	6	75
	(-)	4	239	243
RESULTADO TOTAL		73	245	318

Sensibilidad relativa: 94.5% (86.6%-98,5%)
Especificidad relativa: 97.6% (94.7%-99,1%)
Exactitud Relativa: 96.9% (94.3%-98.5%)

3.- *Cryptosporidium*

Se analizaron 275 muestras de pacientes con *Cryptosporidium*:

METODO		Otro test rápido		RESULT. TOTAL
Test Rápido actual	RESULTADOS	(+)	(-)	
	(+)	29	5	34
	(-)	1	240	241
RESULTADO TOTAL		30	245	275

Sensibilidad relativa: 96.7% (82.8%-99,9%)
Especificidad relativa: 98.0% (95.3%-99,3%)
Exactitud Relativa: 97.8% (95.3%-99,2%)

Repetibilidad y reproducibilidad

Para chequear la exactitud intra-análisis (repetibilidad), se procesaron las mismas muestras negativa y positivas 3 veces con kits del mismo lote de producción en las mismas condiciones experimentales. Todos los resultados fueron confirmados como se esperaba.

Para chequear la exactitud inter-análisis (reproducibilidad) se procesaron las mismas muestras anteriores sobre kits de diferentes lotes de producción. Todos los resultados fueron confirmados como se esperaba

Reacciones Cruzadas

Se estudió la reacción cruzada con los siguientes organismos a $1,0 \times 10^9$ organismos x ml. Se encontraron negativos los siguientes organismos cuando se examinaron con el actual test:

Shigella dysenteriae	Shigella flexneri
Shigella sonnei	Clostridium difficile
Helicobacter pylori	E.coli

Bibliografía

- Yves; Hansmann, Yves; Hannedouche, Thierry; Christmann, Daniel; Pfaff, Alexander W.; Filisetti, Denis; Pesson, Bernard; Abou-Bacar, Ahmed; Candolfi, Ermanno (2015). "First case of amebic liver abscess 22 years after the first occurrence"
4. 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.
5. 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.
6. Copue S, Delabre K, Pouillot R et al. Detection of *Cryptosporidium*, Giardia and Enterocytozoon bienewisi in surface water, including recreational areas: a one year prospective study: FEMS Immunol Med Microbiol. 2006; 47:351-9.
7. 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.
8. 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.
9. Copue S, Delabre K, Pouillot R et al. Detection of *Cryptosporidium*, Giardia and Enterocytozoon bienewisi in surface water, including recreational areas: a one year prospective study: FEMS Immunol Med Microbiol. 2006; 47:351-9.

Number: 146162400
Effective date: 2019-12-11