

Crypto-Giardia Duo-Strip



www.corisbio.com

IFU-5718/ES/09

Prueba rápida de diagnóstico *in vitro* para la detección de *Cryptosporidium* y/o *Giardia lamblia* en muestras de heces humanas

PARA USO *IN VITRO*

SOLO PARA USO PROFESIONAL

Referencias: C-1018, 25 pruebas por kit

C-1518, 10 pruebas por kit, con método de toma de muestras

Fabricante:

Coris BioConcept
Science Park CREALYS
Rue Jean Sonet 4A
B – 5032 GEMBLoux
BELGIUM
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com

Producido en BÉLGICA

ES

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones parasitarias siguen siendo un problema sanitario muy grave en todo el mundo.

Cryptosporidium y *Giardia* son géneros de protozoos parásitos que infectan a un amplio abanico de vertebrados. Algunas especies de estos géneros causan criptosporidiosis y giardiasis en seres humanos, que probablemente constituyen las causas más habituales de diarrea provocada por protozoos en todo el mundo, y producen una morbimortalidad significativa tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. La transmisión se produce por vía orofecal tras el contacto directo o indirecto con los estadios transmisores (ovoquistes de *Cryptosporidium* y quistes de *Giardia*), incluyendo la transmisión entre personas, zoonótica, a través del agua y a través de los alimentos.

Giardia lamblia (sinónimos: *G. duodenalis*, *G. intestinalis*) es responsable de una de las principales causas de diarrea persistente en los países desarrollados. Los trofozoítos se excretan principalmente durante la fase aguda de corta duración, mientras que los quistes se incorporan a las heces durante la fase crónica que le sigue. Los síntomas habituales son diarrea, flatulencia, calambres en el intestino superior, distensión abdominal, náuseas y pérdida de peso.

El examen microscópico sigue siendo el método de elección para detectar la giardiasis. Sin embargo, cada vez existen más ensayos ELISA disponibles, ya que el método microscópico requiere mucho tiempo y es necesaria cierta preparación por parte del técnico.

La criptosporidiosis es una de las principales causas de diarrea persistente en los países desarrollados. Se debe a la presencia de ovoquistes de *Cryptosporidium parvum* en el tubo digestivo. Se sabe que este parásito es altamente patogénico y, en su estadio infeccioso, se transmite por contacto orofecal. Es también un patógeno oportunista en pacientes con inmunodeficiencias.

Los síntomas de criptosporidiosis son diarrea acuosa, calambres estomacales, pérdida de peso, náuseas y fiebre. En los países industrializados, entre el 2 y el 2,5% de los pacientes hospitalizados con diarrea presentaban ovoquistes de *C. parvum*. El 10% de los pacientes con SIDA presentan criptosporidiosis crónica y esta cifra puede llegar al 40% en algunos países desarrollados. *C. parvum* se diagnostica mediante tinción de Ziehl-Neelsen o mediante inmunofluorescencia en frotis de muestras poco concentradas. Existen también diversos ensayos ELISA disponibles para la detección específica de antígenos antiovoquistes. Pueden utilizarse los nuevos métodos de biología molecular, como la RCP, para detectar estos parásitos en el suministro de agua o en muestras de portadores asintomáticos. Todos estos métodos son extremadamente sensibles y deben ser llevados a cabo por técnicos experimentados.

Coris BioConcept ha desarrollado una prueba de diagnóstico rápido que puede detectar simultáneamente los ovoquistes de *Cryptosporidium parvum* y los antígenos de *Giardia* en muestras fecales poco concentradas, en solo 15 minutos.

II. PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Esta prueba está lista para usar y se basa en una tecnología de membrana con oro coloidal. Este producto permite la detección de *Giardia lamblia* o de *Cryptosporidium* en muestras de heces. Las especificidades se deben a anticuerpos monoclonales frente a antígenos de *Giardia lamblia* (el coproantígeno 65-kDA, una glucoproteína presente en los quistes y trofozoítos de *G. lamblia*) o de *Cryptosporidium*.

El producto consta de dos tiras independientes, una específica para *Cryptosporidium* y otra para *Giardia lamblia*, que deben colocarse dorso contra dorso, de manera que presenta dos caras con actividad específica. Una de ellas está sensibilizada con anticuerpos monoclonales específicos para *Cryptosporidium* (cara A) y la otra con un anticuerpo monoclonal específico para *Giardia lamblia* (cara B). La lectura de resultados se lleva a cabo en ambas caras.

Cuando la tira se sumerge en la solución de la muestra, los conjugados secos de las membranas de aplicación situadas en ambas caras de la tira se disuelven y migran junto con la muestra. Si en la muestra está presente *Cryptosporidium*, el complejo que se forma entre el conjugado anti-*Cryptosporidium* y el antígeno será atrapado por el anticuerpo monoclonal específico anti-*Cryptosporidium* que recubre la cara A de la tira. Si la muestra contiene *Giardia lamblia*, se formará un complejo con el conjugado anti-*Giardia* y será atrapado por el anticuerpo monoclonal anti-*Giardia* que recubre la cara B de la tira. El resultado es visible a los 15 minutos en forma de una línea roja que aparece en la tira.

La solución continúa migrando hasta encontrar un tercer reactivo que se une al conjugado de control de migración, produciendo una línea de control roja que confirma que la prueba funciona correctamente.

III. REACTIVOS Y MATERIALES

1. Crypto-Giardia Duo-Strip (10 o 25)

Estas varillas están medidas en un frasco o en un sobrecito con desecante.

2. Instrucciones de uso (1)

3. Tampón de dilución (15 mL)

Solución salina tamponada a un pH de 7,5 que contiene Tris, EDTA, NaN₃ (<0,1%), un detergente y proteínas de bloqueo.

4. Materiales requeridos (suministrados con C-1518)

- Tubos de ensayo de 3 mL o 5 mL
- Asas de muestreo para tomar las muestras fecales.

Materiales que deben solicitarse por separado:

- Control test de *Giardia* (Ref.: C-1093)
- Control negativo (Ref.: CTR-1000)

IV. PRECAUCIONES ESPECIALES

- Todas las operaciones vinculadas con el uso de la prueba deben realizarse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

- Todos los reactivos son sólo para uso en el diagnóstico *in vitro*.

- Evite tocar con los dedos la nitrocelulosa.

- Al manipular las pruebas, utilice guantes.

- No utilice nunca los reactivos de otro kit.

- Este se debe volver a sellar tan pronto como se haya retirado la cantidad de tiras necesarias para la operación, ya que las tiras son sensibles a la humedad. Asegúrese de que la bolsa de desecante está presente.

- Si las tiras se encuentran en sobrecitos individuales, ábralos con cuidado para no dañar la tira.

- Dos líneas verdes en cada cara indican los lugares de adsorción de los inmunoreactivos. Las líneas superiores son las líneas de control de migración, mientras que las líneas inferiores corresponden a las pruebas de *Crypto* y *Giardia*.

- La calidad de los reactivos no se puede garantizar tras el vencimiento del período de caducidad o si los reactivos no se conservan en las condiciones requeridas, como se indica en el folleto.

Para evitar diluir el conjugado de oro coloidal en la solución, procure no sumergir la tira por encima de la línea indicada bajo las flechas impresas en el adhesivo.

V. ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

- Deseche los guantes, hisopos, tubos de ensayo y accesorios utilizados de acuerdo con las BPL.

- Cada usuario es responsable de la gestión de los residuos producidos y debe asegurarse de que se eliminan de acuerdo con la legislación vigente

VI. CONSERVACIÓN

- Un kit sin abrir se puede mantener entre 4 y 30°C y utilizarlo durante el período de validez indicado en el envase.

- Después de abrir el frasco, las tiras se mantienen estables durante 15 semanas (en el envase cerrado) si se guardan entre 4 y 30°C y en un entorno seco.

- Evite congelar la tira y el tampón.

VII. MANIPULACIÓN Y RECOGIDA DE MUESTRAS

Las muestras de heces deben procesarse lo más rápidamente posible después de recogerlas. Si es necesario, se pueden almacenar entre 2 y 8°C durante una semana o a -20°C durante períodos de tiempo más prolongados.

Asegúrese de que las muestras no se tratan con soluciones que contengan formaldehído o sus derivados.

VIII. PROCEDIMIENTO

PREPARATIVOS PARA LA PRUEBA:

Deje que los componentes del kit, dentro del envase sin abrir, y las muestras alcancen la temperatura ambiente (de 15 a 30°C) antes de realizar una prueba.

Una vez abierta, realice la prueba inmediatamente. Indique el nombre del paciente y el número de muestra en el tubo. Coloque los tubos de ensayo marcados en una gradilla.

PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

1. Añada 14 gotas de la solución del tampón de dilución en un tubo.
2. Sumerja un asa que contenga la muestra de heces en el tubo. **La relación de dilución debe ser del 4% de p/v aproximadamente.** Para las muestras líquidas, coja 2 asas de 10 µL; para las muestras sólidas, coja 1 asa.
3. Deseche el asa de muestreo.
4. Agite el preparado para homogeneizarlo. Toda la muestra de heces debe diluirse en la solución.
5. Sumerja la tira sensible en la dirección indicada por la flecha roja.

Deje que reaccione durante 15 minutos. Los resultados positivos se pueden comunicar en el momento en que resulten visibles las líneas de prueba y control.

No tenga en cuenta la aparición de nuevas líneas una vez sobrepasado el tiempo de reacción.

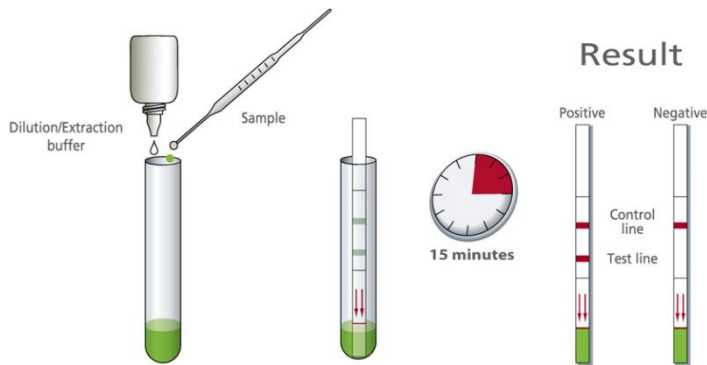
Los resultados se deben leer en tiras todavía húmedas.

IX. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La cara con el adhesivo de color naranja es específica para *Cryptosporidium*

La cara con el adhesivo de color rosa es específica para *Giardia*

Los resultados se deben interpretar del modo siguiente:



Resultado negativo de la prueba: aparece una línea rojiza purpúrea en la posición de la línea de control (C) (línea superior). No aparece ninguna otra banda.

Resultado positivo de la prueba: además de una banda rojiza purpúrea en la línea de control (C), aparece una banda rojiza purpúrea visible en la posición de la línea de prueba (T). La intensidad de la línea de prueba puede variar en función de la cantidad de antígenos encontrados en la muestra. Cualquier línea (T) rojiza purpúrea, incluso débil, debe considerarse como un resultado positivo.

Resultado no válido de la prueba: La ausencia de una línea de control indica un fallo en el procedimiento de la prueba. Repita las pruebas no válidas con un nuevo dispositivo de prueba.

Nota: durante el proceso de secado, puede aparecer una sombra muy ligera en la posición de la línea de prueba. No debe considerarse como un resultado positivo.

X. CONTROL DE CALIDAD

De acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio, se recomienda comprobar periódicamente el rendimiento de las pruebas en función de los requisitos del laboratorio. Moje la tira en 500 µL de control preparado (consulte las instrucciones de uso de CTR-1000 o C-1093).

XI. RESULTADOS

A. Límite de detección

El límite de detección para *Cryptosporidium parvum* es de 50 a 100 ovoquistes en 100 µL de heces.

B. Sensibilidad - Especificidad (correlación):

Se ha llevado a cabo una evaluación para caracterizar el kit, en la que se han utilizado 100 muestras de heces, con el fin de compararlo con una prueba rápida inmunoenzimática. Se han obtenido los resultados siguientes:

CRYPTOSPORIDIUM

Immuno enzymatic Test Crypto (/Giardia) strip	Positiva	Negativa	Total
Positiva	45	0	45
Negativa	2	53	55
Total	47	53	100

95 % Intervalo de confianza¹

Sensibilidad:	95.7 %	(84.3 to 99.3 %)
Especificidad:	100 %	(91.6 to 100 %)
Valor predictivo positivo:	100 %	(90.2 to 100 %)
Valor predictivo negativo:	96.4 %	(86.4 to 99.4 %)
Fiabilidad:	98 %	(98/100)

GIARDIA

La sensibilidad y la especificidad han sido probadas en 90 muestras de heces, comparando los resultados obtenidos con Enzyme Immunoassay (EIA). Se obtuvieron los resultados siguientes:

Coris BioConcept	EIA	Positiva	Negativa	Total
Positiva		17	2	19
Negativa		0	71	71
Total		17	73	90

95 % Intervalo de confianza¹

Sensibilidad:	100 %	(77.1 – 100 %)
Especificidad:	97.3 %	(89.6 – 99.5 %)
Valor predictivo positivo:	89.5 %	(65.5 – 98.2 %)
Valor predictivo negativo:	100 %	(93.6 – 100 %)
Fiabilidad:	97.8 %	(88/90)

C. Precisión

Para verificar la precisión dentro de un mismo lote, se realizaron 15 análisis de una muestra positiva de Giardia, una muestra positiva de *Cryptosporidium* y una solución tampón (como solución de control negativa) con tiras del mismo lote de producción, en las mismas condiciones experimentales. Todos los resultados observados fueron similares a lo previsto.

Para verificar la precisión entre los lotes, se analizaron las mismas muestras (positiva para Giardia, positiva para *Cryptosporidium* y tampón de dilución) con tres lotes de fabricación distintos. Todos los resultados fueron similares a lo previsto.

D. Interferencias

Se analizó la reactividad cruzada de muestras positivas para los patógenos siguientes y se demostró que era negativa:

CRYPTO:

Acinetobacter Iwoffii, Adenovirus group, *Aeromonas hydrophila*, *Brucella abortus*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, Coronavirus, *Enterobacter cloacae*, several *E. coli* strains, *Escherichia hermannii*, *Giardia lamblia*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, Rotavirus, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Yersinia enterocolitica* (1, 3, 9).

GIARDIA:

Escherichia coli strains (O157:H7, O117:H7, O55:H7, CS31, O116H-), *Acinetobacter Iwoffii*, *Aeromonas hydrophila*, *Campylobacter jejuni*, Rotavirus, Adenovirus group, Adenovirus 40/41, *Cryptosporidium parvum*, *Enterobius vermicularis*, *Enterobius faecalis*, *Enterovirus*, *Hymenolepis nana*, *Entamoeba histolytica*, *Escherichia hermannii*, *Legionella pneumophila*, *Moraxella catarrhalis*, *Mycoplasma hominis*, *Nocardia asteroides*, *Proteus mirabilis*, Human respiratory syncytial virus.

XII. LÍMITES DEL KIT

Esta es una prueba cualitativa y no puede predecir la cantidad de antígenos presentes en la muestra. Debe tenerse en cuenta la presentación clínica y los resultados de otras pruebas para establecer un diagnóstico.

Una prueba positiva no descarta la posibilidad de que pueda haber otros patógenos presentes

La prueba del kit es una prueba de detección en fase aguda. Las muestras recogidas tras esta fase pueden contener títulos de antígenos inferiores al umbral de sensibilidad del reactivo. Si una muestra presenta un resultado negativo a pesar de los síntomas observados, deberán realizarse otras pruebas relevantes para comprobar la muestra.

XIII. PROBLEMAS TÉCNICOS / RECLAMACIONES

Si surge un problema técnico o si los resultados no coinciden con los indicados en el prospecto de este envase:

1. Registre el número de lote del kit correspondiente
2. Si es posible, conserve la muestra problemática en el congelador mientras dure la gestión de la reclamación
3. Póngase en contacto con Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) o con su distribuidor local

XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A. Johnston S.P. et al. 2003. Evaluation of three commercial assays for detection of giardia and cryptosporidium organisms in fecal specimens. Journal Of Clinical Microbiology, Feb. 2003, p.623-626
- B. William E. Aldeen et al. 1998. Comparison of nine commercially available enzyme-linked immunosorbent assays for detection of *Giardia lamblia* in fecal specimens. Journal of Clinical Microbiology, May 1998, p. 1338-1340
- C. Henry H. Stibbs et al. 1988. Enzyme Immunoassay for detection of *Giardia lamblia* cyst antigens in formalin-fixed and unfixed human stool. Journal Of Clinical Microbiology, sept.1988, p.1665-1669
- D. R. Verdon, D. Bellahsen, E. René. La *Cryptosporidiose*. Gastroenterol Clin Biol, 1992, 16, 351-358
- E. Belhadj S, Kallel K, Boussen N, Ghobantini A, Bejaoui M, Ben Salem N, Zribi A, Ben Chaabane T, Chaker E. Role of cryptosporidia and microsporidia in diarrhea in immunocompromised patients. Tunis Med 1999 Dec; 77(12):638-43
- F. McIver C.J. et al. 2001. Diagnosis of enteric pathogens in children with gastroenteritis. Pathology 2001 Aug ;33(3) : 353-8
- G. R.C. Andrew Thompson. 2000. Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. International Journal for parasitology , 2000, 30 : 1259-12678.
- H. D. Van Kerkhoven, M.Lontié, J. Verhaegen and V.lagrou: Evaluation of the giardia-strips: an in-vitro immunochromatographic test for the detection of *Giardia lamblia* cyst in faecal specimen
- I. D.Vastert, M. Brinckman, H.H.Wilke, B.Mulder: Diagnosis of cryptosporidium parvum with microscopy, strip-test, Elisa, and Real time PCR.
- J. T. K. T. Nguyen et al. : Evaluation of an immunochromatographic assay: Giardia-Strip® (Coris BioConcept) for detection of *Giardia intestinalis* in human fecal specimens; European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, p. 623-625, April 2012

Última actualización: ABRIL 2015

REF	Número de catálogo		Fabricado por
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro		Límites de temperatura
	Contenido suficiente para <n> pruebas	DIL SPE	Diluyente (Muestra)
	Consulte las instrucciones de uso		No reutilizar
	Mantenga en lugar seco		Fecha de caducidad
DIL AS	Diluyente (Ensayo)	CONT NaN ₃	Contiene azida sódica

¹ Newcombe, Robert G. "Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods," *Statistics in Medicine*, 17, 857-872 (1998).