

RIDA[®] QUICK
Cryptosporidium/Giardia Combi

Art. n°: N1123



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17. D-64297 Darmstadt, Alemania
Teléfono: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Área de aplicación

Para el diagnóstico *in vitro*. El RIDA®QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi es un test inmunocromatográfico rápido para la identificación cualitativa de *Cryptosporidium parvum* y / o *Giardia lamblia* en muestras de heces.

2. Resumen y explicación del test

La **Giardia lamblia** pertenece a los flagelados intestinales. Los trofozoitos característicos morfológicamente sobreviven sólo un corto tiempo fuera del organismo hospedero. Los quistes son altamente infecciosos y sirven para su transmisión. Debido a su amplia propagación en el mundo la *Giardia lamblia* constituye una de las causas importantes de las enfermedades diarreicas crónicas, especialmente al enfocar los problemas de la medicina para viajeros. La infección se manifiesta después de la ingestión de quistes contenidos en alimentos y agua contaminada. En instituciones colectivas con higiene deficiente la infección se transmite generalmente de persona a persona por vía fecal-oral. Esta vía de transmisión es frecuente en guarderías, jardines infantiles y asilos así como en homosexuales varones. Los padres pueden a su vez ser infectados por sus hijos. En contraste a los niños pequeños en el caso de niños mayores infectados los síntomas pueden estar ausentes. No obstante ellos excretan quistes y pueden infectar a otras personas. La giardiasis (lambliasis) se manifiesta como diarrea aguda o crónica. El tiempo de incubación está entre 3 y 42 días. El método más frecuente para el diagnóstico de la giardiasis en el pasado era la identificación microscópica de quistes en las heces, para lo cual debe existir personal experimentado disponible. Los exámenes requieren realizarse durante un período de tiempo largo, ya que la excreción de quistes se caracteriza por tener grandes fluctuaciones.

El **Cryptosporidium parvum** es un parásito ampliamente extendido en animales que también aparece en animales domésticos como germen patógeno importante, especialmente en los terneros. Hoy en día se observan, más frecuentemente de lo que se suponía antes, también infecciones en humanos en muchos países. El parásito causa a menudo en niños de países tropicales en desarrollo diarreas endémicas y epidémicas. En pacientes inmunocompetentes la enfermedad se manifiesta como una gastroenteritis de curación espontánea. La diarrea dura entre 3 y 10 días y puede estar acompañada de fiebre y síntomas gastrointestinales tales como náuseas y dolor similares a los que produce la giardiasis (lambliasis). Mucho más graves son los síntomas y efectos en pacientes inmunoincompetentes en los cuales las diarreas tienen un curso peor y son persistentes. La transmisión de la infección se puede efectuar del animal al hombre a través del agua contaminada, sin embargo también puede ocurrir de persona a persona. Los miembros de instituciones colectivas como los niños en jardines infantiles así como los grupos de riesgo de hombres homosexuales y los infectados con SIDA están especialmente en peligro.

El método aplicado con más frecuencia en el pasado para el diagnóstico de criptosporidiosis era la identificación microscópica de oocistos en heces o el examen microscópico de muestras de biopsias del intestino delgado, para las cuales era necesario tener disponible personal experimentado. Un método alternativo importante, con respecto a la microscopía, para la identificación tanto de *Giardia lamblia* como de *Cryptosporidium parvum*, es el Test Rápido inmunocromatográfico que se describe a continuación, cuya sensibilidad y especificidad mediante el uso de anticuerpos monoclonales lo hacen de igual calidad a los exámenes microscópicos. La realización es sencilla y rápida sin necesidad de personal con calificación microbiológica especializada.

3. Fundamento del test

El presente Test Rápido es una prueba inmunocromatográfica de flujo lateral de un solo paso, en la cual los anticuerpos específicos dirigidos contra ambos parásitos están acoplados a partículas rojas (específico para *Giardia*) o azules (específico para *Cryptosporidium*) de látex. Otros anticuerpos específicos contra ambos agentes patógenos están unidos fuertemente sobre la membrana. Primeramente se suspende la muestra de heces en buffer de extracción y se deja sedimentar. Una parte alícuota del sobrenadante claro de la muestra se deposita sobre la tira, aquí se une con las partículas coloreadas de látex, y en caso positivo se acopla al anticuerpo presente; corre a través de la membrana y se enlaza con la banda específica de captura. Según el antígeno presente en la muestra se observará una banda azul y / o una banda roja.

4. Contenido del envase

Los reactivos de un envase alcanzan para 20 determinaciones

Cassette	20 determ.	20 casetes envasados individualmente
Diluent	26 ml	Buffer de extracción, listo para el uso; contiene azida de sodio al 0,1 %
Pipet	25 piezas	Bolsa con 25 pipetas desechables

5. Reactivos y su almacenamiento

El envase se puede conservar entre 2 – 30 °C y se puede usar hasta la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta. Después de la fecha de vencimiento no se asumen garantías de calidad. Del mismo modo tampoco se puede garantizar la idoneidad de uso para casetes cuyo envase exterior individual haya sido dañado.

6. Reactivos adicionales necesarios – accesorios requeridos

- Tubitos de muestras para las suspensiones de heces
- Agitador Vortex (opcional)
- Micropipetas (200 µl – 1000 µl)
- Recipiente de desechos con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5 %

7. Medidas de seguridad

Sólo para el diagnóstico *in vitro*.

Este test debe ser realizado solamente por personal calificado de laboratorio. Se deben observar las líneas directivas de trabajo para laboratorios médicos. Las instrucciones para el uso del test deben cumplirse estrictamente.

El buffer de dilución de muestras contiene azida de sodio como agente conservante. Se debe evitar por tanto el contacto con la piel o mucosas.

No se debe pipetear las muestras o reactivos con la boca, así como también evitar el contacto con piel lesionada o mucosas. Durante el trabajo con las muestras deben usarse guantes desechables y lavar las manos después del test. En los locales donde se trabaje con las muestras no está permitido fumar, comer o beber.

Todos los materiales y reactivos que entren en contacto con muestras potencialmente infecciosas se requiere que antes de su eliminación sean tratados, al igual que las muestras, con agentes desinfectantes adecuados (por ej. hipoclorito de sodio) o se sometan a autoclave por lo menos una hora a 121 °C.

8. Recolección y conservación de las muestras

Las muestras de heces se deben coleccionar en recipientes limpios sin ningún tipo de aditivo y conservar entre 2 – 8 °C antes del comienzo del test. Si se guarda por más 3 días la muestra debe congelarse a -20 °C. En este caso la muestra se descongela completamente antes del inicio del test y se lleva a temperatura ambiente. Evite congelar y descongelar las muestras varias veces.

Si se van a utilizar frotis rectales se debe prestar atención a que haya suficiente material de heces (ca. 50 mg) para la realización del test.

9. Realización del test

9.1. Generalidades

Las muestras, el buffer de extracción y los casetes de prueba deben ajustarse a temperatura ambiente (20 – 25 °C) antes de proceder a utilizarlos. Los casetes de prueba sólo deben extraerse del envase exterior poco antes de su uso. Los casetes de prueba que se hayan usado una vez no se pueden volver a utilizar. Se debe evitar la incidencia directa de la luz solar durante la realización del test.

Las cantidades sobrantes de reactivo no se deben retornar a los frascos, ya que esto puede provocar una contaminación.

9.2. Preparación de las muestras

En un tubo de ensayo rotulado se vierte 1 ml de buffer de extracción **Diluent**. En el caso de una muestra **líquida** de heces se aspiran con una pipeta desechable **Pipet** 100 µl (tomando hasta un poco por encima del segundo espesamiento) y se hace una suspensión en el tubo de ensayo con el buffer. En el caso de muestras **sólidas** de heces se toman 50 mg y se suspenden en buffer. Acto seguido se debe homogeneizar bien la muestra. Esto se efectúa mediante la aspiración y expulsión repetida de la suspensión con la pipeta desechable **Pipet** o alternativamente por agitación en un agitador Vortex. Después se deja sedimentar la suspensión homogénea al menos **3 minutos** hasta que se forme un sobrenadante claro.

9.3. Análisis de las muestras

El casete de prueba **Cassette** que se va a utilizar se coloca sobre una superficie plana. Acto seguido se toman del sobrenadante claro de la suspensión de heces 200 µl con la micropipeta o 4 gotas con la pipeta desechable **Pipet** y se transfieren al casete a través del orificio circular de entrada. Se debe cuidar que el líquido fluya sin impedimento a través de la membrana. Las partículas que eventualmente hayan sido pipeteadas y pudieran impedir esto, deben ser eliminadas previamente. Después de **5 minutos** se puede leer el resultado.

10. Control de calidad – Indicios de reactivos vencidos

El test sólo debe evaluarse si el casete de prueba está intacto **antes** de pipetear la suspensión de la muestra y no se ven en ella cambios de coloración o bandas. Además es imprescindible que se vea **después** de la incubación del test por lo menos la banda **verde** de control. Si ésta no aparece, se deben hacer las siguientes comprobaciones antes de repetir el test:

- Durabilidad de los casetes de prueba y del buffer de extracción utilizado
- Ejecución correcta del test
- Contaminación del buffer de extracción

Si entonces en la repetición del test con un nuevo casete tampoco es visible la banda de control, Ud. se debe dirigir al fabricante.

11. Evaluación e interpretación

Como máximo deben aparecer tres bandas, vistas desde el punto de aplicación de la muestra y en el siguiente orden: Una banda azul (T_1 = banda 1 del test), una roja (T_2 = banda 2 del test), y una verde (C = banda de control). **¡ Si no aparece la banda verde de control el test no es evaluable y por tanto inválido !**

Las siguientes interpretaciones son posibles:

- **Cryptosporidium positivo** : banda azul y banda verde son visibles.
- **Giardia positiva** : banda roja y banda verde son visibles.
- **Cryptosporidium y Giardia positivos**: banda azul, banda roja y banda verde son visibles.
- **Negativo** : Sólo la banda verde es visible.
- **Inválido** : no hay bandas visibles o existe otra situación diferente a la descrita más arriba así como otras coloraciones de las bandas. Igualmente si hay coloraciones de bandas que aparecen a los 10 minutos o más tarde se deben evaluar como carentes de valor diagnóstico.

12. Limitaciones del método

El RIDA[®]QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi identifica el antígeno de Cryptosporidium parvum y / o de Giardia lamblia en muestras de heces. No es posible establecer una relación entre la intensidad de la banda específica visible y la manifestación o gravedad de síntomas clínicos. **Los resultados obtenidos siempre deben interpretarse de conjunto con el cuadro clínico.**

Un resultado **positivo** no excluye la presencia de otros agentes infecciosos.

Un resultado **negativo** no excluye una posible infección con Cryptosporidium o Giardia. La causa de ello puede ser una excreción intermitente del agente patógeno o una cantidad demasiado baja de antígeno en la muestra. Si existe la sospecha anamnésica fundada de una infección con los agentes patógenos analizados se debe repetir el análisis a otra muestra de heces del paciente.

Un exceso de muestra de heces puede provocar bandas de color pardusco en lugar de las bandas con colores específicos. Estas bandas parduscas no tienen valor diagnóstico. En tales casos se debe realizar un nuevo análisis con una cantidad de heces menor o con una dilución más de la suspensión ya preparada (sobrenadante claro después de la sedimentación), para esclarecer si los agentes patógenos buscados están realmente presentes en la muestra y fueron enmascarados por usar demasiada matriz de heces.

13. Características de rendimiento

13.1. Estudio clínico comparativo

En un laboratorio de rutina se realizó una investigación comparativa tanto en muestras de heces congeladas como frescas entre el test RIDA®QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi y el método de microscopía establecido allí para un total de 70 muestras de heces (15 positivas de Giardia lamblia y Cryptosporidium parvum en cada caso así como en total 40 muestras de heces negativas para ambos parásitos). Los resultados se resumen en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1: Comparación del RIDA®QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi con la Microscopía con evaluación única de la banda específica de Cryptosporidium

		RIDA®QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi	
		+	-
Microscopía	+	14	1
	-	0	40

Sensibilidad: 93,8 %

Valor positivo pronosticado: 100,0 %

Especificidad: 100,0 %

Valor negativo pronosticado: 97,5 %

Tabla 2: Comparación del RIDA®QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi con la Microscopía con evaluación única de la banda específica de Giardia

		RIDA®QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi	
		+	-
Microscopía	+	15	0
	-	2	38

Sensibilidad: 100,0 %

Valor positivo pronosticado: 88,2 %

Especificidad: 95,2 %

Valor negativo pronosticado: 100,0 %

13.2. Reactividad cruzada

Ninguno de los siguientes parásitos intestinales condujo a una reacción cruzada en el RIDA®QUICK Cryptosporidium/Giardia Combi:

Entamoeba coli

Blastocystis hominis

Iodamoeba butschlii

Chilomastix mesnili

Endolimax nana

Huevos de Taenia spp.

Bibliografía

1. Black, R. E. et al.: Giardiasis in day-care centers: Evidence of person-to-person transmission. *Pediatrics* 60 (No. 4), 486 - 491 (1977).
2. Craun, G. F.: Waterborne Giardiasis in the United States: A review. *Am. J. Pub. Health* 69 (No. 8), 817 - 819 (1979).
3. Nask, T. E. et al.: Experimental human infections with *Giardia lamblia*. *J. Infect. Dis.* 156 (No. 6), 974 - 984 (1987).
4. Smith, H. V. et al.: *Giardia* and Giardiasis: What's in a name? *Microbiol. Eur.* 3 (No. 1), 22 - 29 (1995).
5. Thompson, R. C. A., Reynoldson, J. A.: *Giardia* and Giardiasis. *Adv. Parasitol.* 32, 71 – 160 (1993)
6. Xiao, L.: *Giardia* infection in farm animals. *Parasitology today* 10 (No. 11), 436 - 438 (1994).
7. Schunk, M. et al.: Detection of *Giardia lamblia* and *Entamoeba histolytica* in stool samples by two enzyme immunoassays. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 20, 389 – 391 (2001)
8. Clavel, A.: Evaluation of the optimal number of fecal specimens in the diagnosis of cryptosporidiosis in AIDS and immunocompetent patients. *Eur. Journal Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 14, 46-49 (1995).
9. Current, W. L., Garcia, L. S.: Cryptosporidiosis. *Clinics in Laboratory Medicine* 11 (No. 4), 873 - 895 (1991).
10. Current, W. L., Garcia, L. S.: Cryptosporidiosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 4 (No. 3), 325 - 358 (1991).
11. Flanigan, T. P.: Human immunodeficiency virus infection and cryptosporidiosis: Protective immune responses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 50 (5) Suppl., 29 - 35 (1994).
12. Guarino, A. et al.: Human intestinal cryptosporidiosis: secretory diarrhea and enterotoxic activity in Caco-2 cells. *J. Infect. Dis.* 171, 976 - 983 (1995).
13. Hayes, E. B. et al.: Large community outbreak of cryptosporidiosis due to contamination of a filtered public water supply. *New. Engl. J. Med.* 320 (No. 21), 1372 - 1376 (1989).
14. Le Chevallier, M. W. et al.: *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in filtered drinking water supplies. *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (No. 9), 2617 - 2621 (1991).
15. Mc. Anulty, J. M. et al.: A community wide outbreak of cryptosporidiosis associated with swimming at a wave pool. *Jama* 272 (No. 20), 1597 - 1600 (1994).