
CERTEST

Crypto+Giardia

ONE STEP

Crypto+Giardia COMBO CARD
TEST

CERTEST BIOTEC S.L.



For Information Only Purposes



CERTEST Crypto+Giardia

One Step test to detect *Cryptosporidium* and *Giardia* in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de *Cryptosporidium* y *Giardia* en formato cassette

ESPAÑOL

USO PREVISTO

CerTest *Crypto+Giardia* combo card test es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa simultánea de *Cryptosporidium* y *Giardia* en muestras de heces.

CerTest *Crypto+Giardia* combo card test ofrece un ensayo de cribado sencillo y de alta sensibilidad para realizar un diagnóstico presuntivo de criptosporidiosis y/o giardiasis.

INTRODUCCIÓN

Giardia y *Cryptosporidium* son parásitos que se encuentran en el agua. *Giardia* provoca una enfermedad intestinal llamada giardiasis. *Cryptosporidium* es responsable de una enfermedad muy similar llamada criptosporidiosis. Estos parásitos son una de las causas más frecuentes de enfermedades transmitidas a través del agua en humanos.

La giardiasis es una enfermedad intestinal ocasionada por *Giardia intestinalis* (llamado también *Giardia lamblia* and *Giardia duodenalis*), un parásito microscópico unicelular que se encuentra en el intestino de las personas y los animales y se transmite a través de las heces de una persona o animal infectado. Este parásito está protegido por una cubierta exterior (quiste) que le permite sobrevivir fuera del cuerpo y en el medio ambiente durante largos periodos de tiempo. Entre los síntomas más comunes figuran diarrea, deposiciones acuosas, calambres y trastornos estomacales. Estos síntomas comienzan 1-2 semanas tras la infección, y pueden durar 2-6 semanas en individuos sanos. A veces los síntomas pueden prolongarse y provocar a una pérdida de peso y deshidratación aun cuando algunas personas no presentan síntomas. En personas inmunodeprimidas (con HIV/SIDA, enfermos de cáncer y pacientes transplantados) o en personas mayores pueden aparecer complicaciones que les conduzcan a una enfermedad grave e incluso la muerte.

Cryptosporidium parvum es el causante más frecuente de procesos diarreicos en los países en desarrollo. Este parásito se localiza en la mayoría de las infecciones patógenas entéricas, su forma infectiva se transmite por vía feco-oral. Algunos de los síntomas más comunes de la criptosporidiosis son diarrea acuosa, dolores agudos de estómago, pérdida de peso, náuseas y alguna vez fiebre.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest *Crypto+Giardia* es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de *Cryptosporidium* y *Giardia* en muestras de heces.

Tira A consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Cryptosporidium* en la línea de test (T), en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Cryptosporidium*) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Tira B consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Giardia* en la línea de test (T), de la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Giardia*) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Si la muestra es *Cryptosporidium* positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-*Cryptosporidium*-microesferas rojas de látex) en la tira A, y si la muestra es *Giardia* positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-*Giardia*-microesferas rojas de látex) en la tira B, los cuales fueron secados previamente en el material absorbente. Esta mezcla avanza por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-*Cryptosporidium* presentes en la membrana de la tira A (línea de test) y los anticuerpos anti-*Giardia* presentes en la membrana de la tira B (línea de test) capturarán el complejo coloreado del test y la línea roja aparecerá en ambas tiras. Estas líneas se usarán para interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no hay presencia de *Cryptosporidium* y *Giardia* o los antígenos están presentes en una concentración inferior al límite de detección y no se produce reacción con ningún complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-*Cryptosporidium* y *Giardia* presentes en las membranas (líneas de test) no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerán las líneas rojas.

Independientemente de que la muestra sea positiva o no, en ambas tiras, la mezcla continuará moviéndose a través de las membranas hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en las líneas de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en ambas membranas capturarán el complejo conjugado de control y las líneas de control verdes siempre aparecerán. La aparición de estas líneas se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado y 3) como control interno de los reactivos.



CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

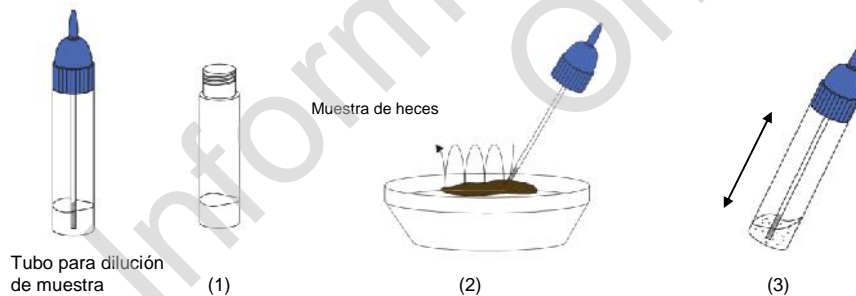
- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada muestra para evitar errores de contaminación.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con CerTest *Crypto+Giardia* combo card test. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se deben conservar en frío (2-8°C), durante 1-2 días, hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20°C. En este caso, la muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba. Homogenizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

1. Abrir el tubo para dilución de muestra (1) y con ayuda del palito tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas. Para ello se introducirá el palito una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra (2), tomando una cantidad de heces (aprox. 125mg) y posteriormente se introducirá la muestra en el tubo para dilución de muestra. Para muestras líquidas, añadida aprox. 125µL en el tubo para dilución utilizando una micropipeta.
2. Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra (3).



MUY IMPORTANTE: Utilizar únicamente muestras frescas o muestras frescas congeladas sin conservantes ni fijadores.

MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest *Crypto+Giardia* combo card tests
- Instrucciones de uso
- Tubos para dilución de muestra con diluyente

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

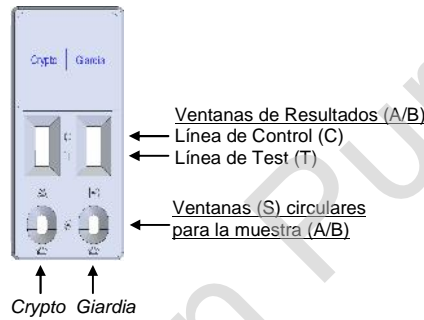
- Recipiente para recogida de muestras
- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO

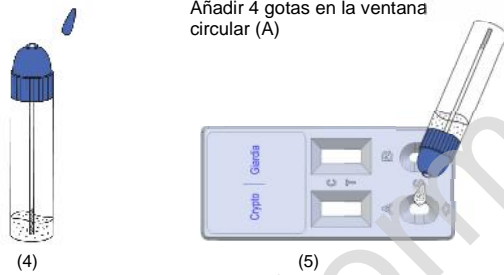
Previamente los tests, las muestras y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir los envases hasta el momento de la prueba.

1. Agitar el tubo para dilución de muestra para asegurar una buena dispersión.
2. Sacar el test CerTest *Crypto+Giardia* de su envase antes de utilizarlo.
3. Tomar el tubo para dilución de muestra, cortar la punta del tapón (4) y añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra A (5), y añadir 4 gotas, con el mismo tubo, en la ventana circular marcada con la letra B (6), evitando añadir partículas sólidas con el líquido.
4. **Leer el resultado a los 10 minutos.** No leer el resultado superados los 10 minutos.

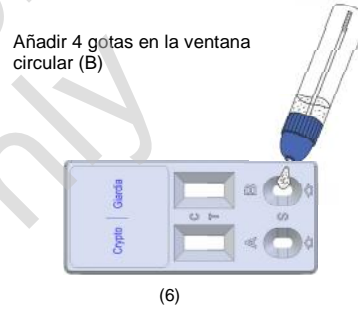
Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas, agitar con el palito la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.



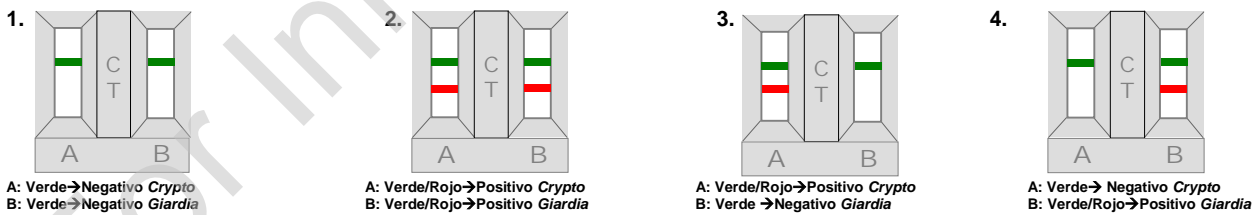
Procedimiento para la tira A de *Crypto*



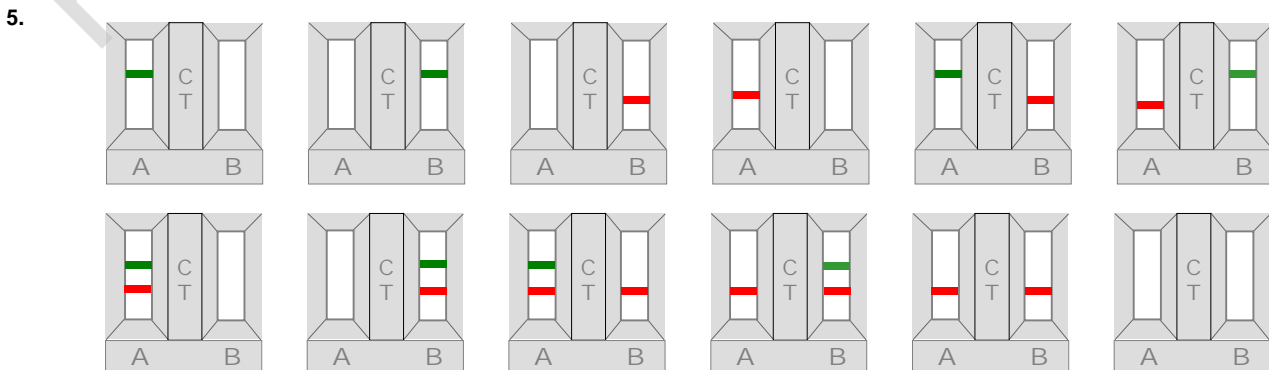
Procedimiento para la tira B de *Giardia*



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS (por favor, fíjese en el siguiente dibujo)



RESULTADOS INVÁLIDOS





CERTEST Crypto+Giardia

One Step test to detect *Cryptosporidium* and *Giardia* in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de *Cryptosporidium* y *Giardia* en formato cassette

	A (Crypto)	B (Giardia)	Interpretación de los resultados
1.	- VERDE	- VERDE	No hay presencia de <i>Cryptosporidium</i> o <i>Giardia</i> . No hay infección causada por <i>Cryptosporidium</i> y <i>Giardia</i> .
2.	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de <i>Cryptosporidium</i> y <i>Giardia</i> . Hay infección causada por <i>Cryptosporidium</i> y <i>Giardia</i> .
3.	+ VERDE-ROJO	- VERDE	Hay presencia de <i>Cryptosporidium</i> . Hay infección causada por <i>Cryptosporidium</i> .
4.	- VERDE	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de <i>Giardia</i> . Hay infección causada por <i>Giardia</i> .
5.	Cualquier otro resultado	Cualquier otro resultado	Cualquier resultado inválido en A o en B: se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.

INVÁLIDO: Cuando alguna línea de control (VERDE) no aparece, independientemente de que aparezcan o no las líneas de test (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: un volumen insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisar el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test. Si los síntomas o la situación persisten, debe dejar de utilizar la prueba y contactar con su distribuidor.

OBSERVACIONES

La intensidad de las líneas de color rojo en las líneas de test (T) en las ventanas de resultados variará dependiendo de la concentración de antígenos presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

Los controles internos de funcionamiento vienen incluidos en la prueba. Las líneas verdes que aparecen en las líneas de control (C) en las ventanas de resultados son los controles internos del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

- Una vez abierto, el test no debe usarse después de 2 horas.
- Utilizar únicamente muestras frescas o muestras frescas congeladas sin conservantes ni fijadores.
- Un exceso de muestra de heces puede dar resultados erróneos, dando líneas no muy definidas de color pardo, que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- La intensidad de la línea de test puede variar desde muy fuerte a alta concentración de antígenos a débil cuando la concentración de antígenos está cerca del valor del límite de detección del test.
- Después de una semana de infección la presencia de parásitos eliminados en heces disminuye considerablemente por lo que es probable una menor concentración en la muestra. Se debe tomar la muestra de heces dentro de la primera semana de aparición de los síntomas.
- CerTest *Crypto+Giardia* debería utilizarse sólo con muestras de heces humanas. El uso de otras muestras no ha sido determinado. La calidad del test depende de la calidad de la muestra; por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras fecales.
- Los resultados positivos determinan la presencia de *Cryptosporidium* y/o *Giardia* en muestras de heces; sin embargo, un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas de laboratorio (métodos bioquímicos o por microscopía) para confirmar los resultados. La infección debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, tras evaluar las pruebas clínicas y los hallazgos de laboratorio teniendo en cuenta la correlación que puede existir con todas las observaciones clínicas.
- Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que la concentración de antígenos en la muestra de heces sea inferior a los valores del límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, la determinación de *Cryptosporidium* y/o *Giardia*, se debería realizar la prueba con otra técnica (por ejemplo microscopía).

VALORES ESPERADOS

Las enfermedades parasitarias causan más del 33% del total de muertes, de las cuales se cree que las infecciones parasitarias del intestino constituyen la mayor parte. Una falta de agua potable y de salubridad medioambiental son responsables de más 800 millones de casos esperados de enfermedades diarreicas y de 4.5 millones de muertes asociadas en muchos países desarrollados cada año (3).

La morbilidad y mortalidad debida a enfermedades diarreicas en países desarrollados continúan siendo los principales problemas de salud pública que necesitan atención. Aunque pueden haber muchas otras causas de diarrea, los protozoos entéricos *Cryptosporidium parvum* y





CERTEST Crypto+Giardia

One Step test to detect *Cryptosporidium* and *Giardia* in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de *Cryptosporidium* y *Giardia* en formato cassette

Giardia lamblia han sido reconocidos como causas importantes de un brote relacionado y de diarrea esporádica entre seres humanos. Ambos individuos inmunocompetentes e inmunocomprometidos pueden ser las víctimas de enfermedades diarreicas causadas por estos parásitos.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo una evaluación, con muestras de heces, con un test inmunocromatográfico (CerTest *Crypto+Giardia*, CerTest) y estos resultados fueron confirmados con examen microscópico y PCR (resultados positivos). Los resultados se muestran a continuación:

IC test: CerTest <i>Crypto+Giardia</i> (<i>Crypto</i>)	Examen microscopico/PCR			Total
		+	-	
	+	25	0	
-	0	229	229	
Total	25	229	254	

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Crypto+Giardia</i> (<i>Crypto</i>) vs examen microscópico	>99%	>99%	>99%	>99%

IC test: CerTest <i>Crypto+Giardia</i> (<i>Giardia</i>)	Examen microscopico/PCR			Total
		+	-	
	+	61	0	
-	2	191	193	
Total	63	191	254	

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Crypto+Giardia</i> (<i>Giardia</i>) vs examen microscópico	97%	>99%	>99%	99%

Los resultados mostraron que CerTest *Crypto+Giardia* presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar *Cryptosporidium* y *Giardia*.

Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de CerTest *Crypto+Giardia*; no se detectó reacción cruzada con organismos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces:

<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Giardia lamblia</i> (Tira A)	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i> (Tira B)	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>















CERTEST Crypto+Giardia

One Step test to detect Cryptosporidium and Giardia in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Cryptosporidium y Giardia en formato cassette

REFERENCES/BIBLIOGRAFÍA

1. MARSHALL, M.M., et al., "Waterborne Protozoan Pathogens", *Clinical Microbiology Review*, Jan. 1997, pp 67-85.
2. DYLAN R. PILLAI and KEVIN C. KAIN, "Immunochromatographic Strip-Based Detection of *Entamoeba histolytica*-*E. dispar* and *Giardia lamblia* Coproantigen". *Journal of Clinical Microbiology*, Sept. 1999, Vol. 37, No 9, p. 3017-3019.
3. LYNNE S. GARCIA et al., "Commercial Assay for Detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* Antigens in Human Fecal Specimens by Rapid Solid-Phase Qualitative Immunochromatography", *Journal of Clinical Microbiology*, Jan. 2003, Vol. 41, No. 1, p. 209-212.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS/SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

 IVD	<i>In vitro</i> diagnostic device Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Keep dry Almacenar en lugar seco		Use by Fecha de caducidad		Manufacturer Fabricante		Batch code Número de lote
	Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso		Temperature limitation Limitación de temperatura		Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test		Sample diluent Diluyente de muestra		Catalogue number Número de referencia



For Information Only Purposes



CerTest
BIOTEC S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1,
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es

