

# CAT

## Critically Appraised Topic

### PARASITOLOGISCH ONDERZOEK OP FECES: NUT VAN *GIARDIA*- (EN *CRYPTOSPORIDIUM*-) ANTIGEEN BEPALING

Author: Dana Van Kerkhoven  
Supervisor: Prof. dr. Katrien Lagrou  
Search/methodology verified by: Dr. Johan Frans  
Date: 24-05-2005  
Expiry date: (2 more years): 24-05-2007

#### CLINICAL BOTTOM LINE

---

Voor antigeendetectie in stoelgang ter opsporing van *Giardia lamblia* zijn drie methoden beschikbaar: immunofluorescentie (met als belangrijkste vertegenwoordiger Merifluor, Meridian), enzyme-linked immunosorbent assay (met als belangrijkste vertegenwoordiger ProSpecT *Giardia* Microplate Assay, Remel) en de niet-enzymatische immunoassays. Tot deze laatste categorie behoort ondermeer de *Giardia*-strip (CorisBioConcept). Deze strip is een snel uit te voeren en gemakkelijk te interpreteren immunochromatografische test, gebaseerd op een monoclonale antistof gericht tegen een membraanantigeen van de *Giardia lamblia* cyste. De sensitiviteit van de antigeentesten, uitgevoerd op één staal, is duidelijk hoger (gemiddeld > 90%; testafhankelijk) dan de sensitiviteit van een éénmalig microscopisch onderzoek (50-80%). De kostprijs van deze kits en het niet kunnen opsporen van alle parasieten (wat het schrappen van het microscopisch onderzoek onmogelijk maakt) vormen de belangrijkste nadelen. In een aantal omstandigheden (kliniek sterk verdacht voor Giardiasis, ter vervanging van invasieve diagnostiek voor het opsporen van trofozoïeten, bij outbreaks, bij screening van hoogrisicopatiënten en follow-up van therapie) zijn de antigeentesten te prefereren boven microscopie en zouden ze eventueel deze laatste kunnen aanvullen (of zelfs vervangen?).

#### CLINICAL/DIAGNOSTIC SCENARIO

---

*Giardia lamblia*, behorende tot de protozoa, is een frequente oorzaak van endemische en epidemische diarree en heeft een kosmopolitische verspreiding. De prevalentie van deze flagellaat in feces varieert van 2 tot 5% in de industrielanden en van 20 tot 30% in de ontwikkelingslanden (15-30% van de kinderen in de ontwikkelingslanden jonger dan 10 jaar zijn besmet). Een epidemiologische studie in de Verenigde Staten van eind jaren '90-begin 2000 meldde 0,1 tot 23,5 gevallen per 100 000 personen per jaar (staatafhankelijk).

De levenscyclus van *Giardia* bestaat uit twee cycli: de trofozoïetfase (reproductief stadium) en de cystfase (infectieus stadium). Men raakt besmet door de orale ingestie van cysten aanwezig in besmet water (drink- of recreatiewater) of in besmet voedsel. Transmissie kan ook optreden via feco-orale overdracht van mens op mens. De opgenomen cysten gaan excyteren, waarbij trofozoïeten vrijkomen die zich koloniseren en vermenigvuldigen in de dunne darm. Wanneer de organismen zich naar het colon begeven, treedt opnieuw cystenvorming op.

De symptomatologie bij Giardiasis varieert van een asymptomatische cystepassage tot een acute zelflimiterende diarree of een chronisch syndroom van niet-inflammatoire diarree met malabsorptie en gewichtsverlies.

Een infectie met *Giardia lamblia* heeft een zeer geringe mortaliteit, maar kan wel leiden tot een aanzienlijke morbiditeit ('failure to thrive' bij kinderen en malabsorptie van vet, lactose, Vitamine A en B12).

De waarschijnlijke etiologische kiem bij diarree kan niet op betrouwbare wijze worden voorspeld aan hand van de kliniek. Verdacht voor een parasitaire infectie met *Giardia* zijn: chronische, persisterende diarree met een niet-inflammatoir karakter (vooral indien geassocieerd met malabsorptie en gewichtsverlies) bij personen die recent hebben gereisd of vermoedelijk werden blootgesteld aan besmet water, bij immuungecompromitteerden, bij homoseksuelen, bij kinderen in een dagverblijf of bij personen die in een instelling verblijven (MMWR 2004 en Dupont et al.). Er kunnen meerdere argumenten worden geformuleerd waarom etiologisch microbiologisch onderzoek bij vermoeden van een parasitaire infectie nuttig is. Enerzijds laat de identificatie van een parasiet als oorzakelijk agens van diarree een optimale keuze toe wat betreft antimicrobiële therapie en voorkomt verdere onnodige procedures of behandelingen (coloscopie, heelkunde, etc). Anderzijds is er ook het epidemiologisch belang (indijken transmissie voor de Volksgezondheid, monitoren van trends in resistentie en etiologie) (IDSA-guidelines).

Er is geen 'gouden standaard' voor de laboratoriumdiagnostiek van Giardiasis. De frequentst gebruikte procedure is het microscopisch opsporen van parasieten in stoelgang. Mogelijke routinematige microbiologische onderzoeken houden in: 1) microscopisch onderzoek van feces, 2) microscopisch onderzoek van dundarmspecimens, 3) cultuur, 4) serologie, 5) moleculair biologisch onderzoek en 6) antigeendetectie.

- De **microscopie** van het directe fecespreparaat, het concentraat en het permanent gekleurd uitstrijkje wordt zeer sterk beïnvloed door de intermitterende parasieten-excretie, maar ook lokale factoren kunnen een grote invloed hebben op de testkarakteristieken (zoals de ervaring van de onderzoeker). Een aantal interfererende factoren die de sensitiviteit negatief beïnvloeden zijn mineraalolie, antacida, bismut, barium, antibiotica, antimalariageenesmiddelen, niet-absorbeerbare diarreemedicatie en galblaaskleurstoffen. 50-80% van de patiënten met Giardiasis worden geïdentificeerd na onderzoek op één staal; voor een sensitiviteit van meer dan 90% zijn drie of meer stoelgangstalen vereist (Burke et al., Hiatt et al., etc.). Aanbevelingen van de 'Centers for Disease Control and Prevention' (CDC) schrijven dan ook minimum drie stalen voor onderzoek voor vooraleer een resultaat als negatief mag worden doorgegeven. Anderen bevelen initieel één stoelgangstaal aan en achten een bijkomende analyse enkel nodig bij de hoogrisicogroepen (immuungecompromitteerden en reizigers) en indien de vorige analyse negatief was en de symptomen persisteren zonder het weerhouden van een andere oorzaak (BC HealthServices, Kabani et al., Isaac-Renton, etc.). Zij baseren zich hiervoor op enkele studies die aantonen dat het gebruik van één stoelgangstaal initieel voldoende is indien de concentratietechniek bij de microscopie wordt gebruikt bij analyses in de symptomatische patiëntengroep (Senay et al., Siegel et al., etc.).

Microscopisch onderzoek op meer invasieve preparaten (string test of Enterotest, dundarmbiopsie of dundarmaspiraats) wordt niet routinematig uitgevoerd. Goka et al. toonde aan dat stoelgangonderzoek een efficiëntere diagnostische procedure voor Giardiasis is dan onderzoek op dundarmpreparaten. In deze studie werd 73% van de *Giardia*-casussen geïdentificeerd op het eerste stoelgangstaal en 85% na drie stalen. 15% kon enkel worden aangetoond op de aspiraten (cryptische casussen), maar bij slechts 44% van de positieve stoelgangstalen waren ook trofozoïeten aanwezig in het aspiiraat. Deze invasieve diagnostiek wordt dan ook meer en meer verlaten door de

verbetering van het microscopisch onderzoek op feces en door de beschikbaarheid van de antigeentesten.

- In vitro **culturen** van *Giardia* worden niet in de routine praktijk gebruikt (groot probleem van reproduceerbaarheid).
- De bepaling van **anti-*Giardia* antistoffen in serum** is niet geschikt voor het aantonen van Giardiasis (Shetty et al. en Jokipii et al.). IgG antistoffen blijven gedurende lange tijd verhoogd waardoor zij van weinig diagnostische betekenis zijn in een endemisch gebied. De betekenis van IgM in het onderscheiden van een acute tegenover een oude infectie is nog altijd niet duidelijk.
- **PCR** voor *Giardia* heeft een zeer hoge sensitiviteit, maar wordt in de richtlijnen voorsnag als een onderzoekstechniek beschouwd. Het kan worden gebruikt om *Giardia* op te sporen in water of om een isolaat te genotypen.
- **Antigeendetectie door immunofluorescentie (IF), enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) en niet-enzymatische immunoassays** zijn nu wijd beschikbaar (addendum 1). Deze testen zijn gevoelig, specifiek en vertonen geen belangrijke kruisreactiviteit. Daarenboven zijn ze eenvoudig en snel uit te voeren. Een positieve antigeentest duidt op een actieve infectie. Bij afwezigheid van infectietekens, wijst een positieve test op dragerschap of op een chronische, inactieve infectie. De antigeentesten worden omwille van hun kostprijs en hun beperking tot het opsporen van één of enkele parasieten (*Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica/dispar* en *Cryptosporidium parvum*) nog niet grootschalig routinematig gebruikt. De CDC-richtlijnen bevelen nochtans hun gebruik aan.

Eén van deze antigeentesten is een immunochromatografische sneltest op feces: de *Giardia*-strip van CorisBioconcept. De mogelijke plaats van deze sneltest in de diagnostiek van parasitaire infecties, *Giardia lamblia* infecties in het bijzonder, is het onderwerp van deze CAT.

Momenteel worden alle courante cysten van protozoa, wormeieren en larven in UZ Gasthuisberg opgespoord door middel van microscopisch onderzoek na concentratie (Ritchie methode), aangevuld met auramine- of safraninekleuring voor het opsporen van *Cryptosporidium parvum*. Er worden geen fixativa gebruikt. Ter vergelijking wordt de gebruikte methodiek in andere centra in Vlaanderen weergegeven in addendum 2. Een analyse van de aangevraagde testen in 2004 voor het opsporen van parasieten in U.Z. Gasthuisberg bevindt zich in addendum 3.

## QUESTION(S)

---

Is er een plaats voor de *Giardia*-strip (CorisBioconcept), een antigeen sneltest op feces voor het opsporen van *Giardia lamblia*, in de diagnostiek van parasitaire infecties?

## SEARCH TERMS

**Zoektermen:** 'parasitology (MeSH)', 'laboratory techniques and procedures (MeSH)', 'diarrhea (MeSH)', '*Giardia* (MeSH)', '*Giardia lamblia* (MeSH)', 'clinical laboratory techniques (MeSH)', 'chromatography (MeSH)', 'immunoassay (MeSH)', 'Giardiasis (MeSH)', 'diagnosis (MeSH)', 'intestinal diseases, parasitic (MeSH)', intestinal parasites, travelers' diarrhea, *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Giardia lamblia/intestinalis*, Giardiasis, *Giardia*-strip, *Cryptosporidium*-strip, ColorPac, ImmunoCard STAT, Triage micro parasite panel

**Databanken:** Pubmed, Pubmed Clinical Queries, Pubmed Systematic Reviews, SUMsearch, National Guideline Clearinghouse, Cochrane Library, UpToDate, Institute for Clinical Systems Improvement, ACP Journal Club, Centre for Reviews and Dissemination

**Beroepsorganisaties:** Infectious Diseases Society of America ([www.idsociety.org](http://www.idsociety.org)), World Health Organization ([www.who.int](http://www.who.int)), Centers for Disease Control and Prevention ([www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)), British Columbia Medical Association ([www.healthservices.gov.bc.ca/msp/protoguides](http://www.healthservices.gov.bc.ca/msp/protoguides)), American Gastroenterological Association, National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS; <http://www.nccls.org/>)

**Tekstboeken:** Manual of Clinical Microbiology, 8<sup>th</sup> edition, Murray PR et al., ASM Press, 2003; Principles and Practice of Infectious Diseases, 6<sup>th</sup> edition, Mandell GL et al., Elsevier Churchill Livingstone; Medische Parasitologie, handleiding bij de laboratoriumdiagnostiek, derde herziene druk, Polderman AM en Rijpstra AC, Bohn Stafleu Van Loghum, Houten, Nederland, 1999; Diagnostic Medical Parasitology, 2<sup>nd</sup> edition, Garcia LS and Bruckner DA, ASM Press, 1993.

## RELEVANT EVIDENCE/REFERENCES

---

### Guidelines:

1. American Medical Association, American Nurses Association, American Nurses Foundation, Centers for Disease Control and Prevention, Center for Food Safety and Applied Nutrition, U.S. Food and Drug Administration, Food Safety and Inspection Service and U.S. Department of Agriculture. Diagnosis and management of foodborne illnesses: a primer for physicians and other health care professionals. MMWR Recomm Rep 2004 Apr 16 (revised); 53 (RR-4): 1-33.
2. CDC, Diagnostic Procedures for Stool Specimens, last modified 2004 (<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>)
3. Investigation of Suspected Infectious Diarrhea. Reviewed 2003; BC HealthServices. (<http://www.healthservices.gov.bc.ca/msp/protoguides>)
4. Thomas PD, Forbes A, Green J, Howdle P, Long R, Playford R, Sheridan M, Stevens R, Valori R, Walters J, Addison GM, Hill P and Brydon G. Guidelines for the investigation of chronic diarrhoea, 2<sup>nd</sup> edition. Gut 2003; 52(Suppl V): V1-V15.
5. Manatsathit S, Dupont HL, Farthing M, Kositchaiwat C, Leelakusolvong S, Ramakrishna BS, Sabra A, Speelman P and Surangsrirat S. Guideline for the management of acute diarrhea in adults. Journal of Gastroenterology and Hepatology 2002; 17 (Suppl.): S54-S71.
6. Gopal Rao G, Ozerek AE and Jeanes A. Rational protocols for testing faeces in the investigation of sporadic hospital-acquired diarrhea. Journal of hospital infection 2001; 47: 79-83.
7. Guarino A and Albano F. Guidelines for the approach to outpatient children with acute diarrhoea. Acta Paediatr 2001; 90: 1087-1095.
8. Guerrant RL, Van Gilder T, Steiner TS, Thielman NM, Slutsker L, Tauxe RV, Hennessy T, Griffin PM, DuPont H, Sack RB, Tarr P, Neill M, Nachamkin I, Reller LB, Osterholm MT, Bennis ML and Pickering LK. Practice Guidelines for the Management of Infectious Diarrhea (IDSA Guidelines). Clinical Infectious Diseases 2001; 32: 331-351.
9. Ova and Parasite Testing of Stool Samples. Reviewed 2001; BC HealthServices. (<http://www.healthservices.gov.bc.ca/msp/protoguides>)
10. Uptodate. AGA technical review: Evaluation and management of chronic diarrhea. Gastroenterology 1999; 116: 1464-1497.
11. Workload guidelines for parasitology technologists september 1999. College of Medical Laboratory Technologists of Ontario.
12. DuPont HL and The Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Guidelines on Acute Infectious Diarrhea in Adults. The American Journal of Gastroenterology 1997; 92(11): 1962-1975.
13. Kabani A, Cadrain G, Trevenen C, Jadavji T and Church DL. Practice Guidelines for Ordering Stool Ova and Parasite Testing in a Pediatric Population. Clinical Microbiology and Infectious Disease 1995; 104(3): 272-278.

14. Cheney CP and Wong RKH. Acute infectious diarrhea. *Medical Clinics of North America* 1993; 77(5): 1169-1195.
15. Lew JF, LeBaron CW, Glass RI, Torok T, Griffin PM, Wells JG, Juranek DD and Wahlquist SP. Recommendations for Collection of Laboratory Specimens Associated with Outbreaks of Gastroenteritis. *MMWR* October 26, 1990/39(RR-14); 1-13. (<http://www.cdc.gov/epo/mmwr/preview/mmwrhtml/00001829.htm>)

### Reviews:

1. Zaat JOM, Mank ThG, Assendelft WJJ. Drugs for treating Giardiasis (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library*, Issue I, 2005. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd..
2. Donowitz M, Kokke FT and Saidi R. Evaluation of patients with chronic diarrhea. *N Eng J Med* 2004; 332(11): 725-729.
3. Hörman A, Korpela H, Sutinen J, Wedel H and Hänninen M-L. Meta-analysis in assessment of the prevalence and annual incidence of *Giardia spp.* And *Cryptosporidium spp.* Infections in humans in the Nordic countries. *International Journal of Parasitology* 2004; 34: 1337-1346.
4. Musher DM and Musher BL. Contagious Acute Gastrointestinal Infections. *N Engl J Med* 2004; 351(23): 2417-2427.
5. Uptodate December 2004. Leder K and Weller PF. Giardiasis.
6. Uptodate December 2004. Leder K, Weller PF and Munoz FM. Giardiasis in children.
7. CDC, Health Information for International Travel 2003-2004 (<http://www.cdc.gov/travel/diarrhea.htm>)
8. McDonald V. Parasites in the gastrointestinal tract. *Parasite Immunology* 2003; 25: 231-234.
9. Adam Rodney D. Biology of *Giardia lamblia*. *Clinical Microbiology Reviews* 2001: 447-475.
10. Gardner TB and Hill DR. Treatment of Giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews* 2001; 14(1): 114-128.
11. Katz DE and Taylor DN. Parasitic Infections of the Gastrointestinal Tract. *Gastroenterology Clinics of North America* 2001; 30(3): 797-815.
12. Okhuysen PC. Traveler's Diarrhea Due to Intestinal Protozoa. *Clinical Infectious Diseases* 2001; 33: 110-113.
13. Faubert G. Immune Response to *Giardia duodenalis*. *Clinical Microbiology Reviews* 2000; 13(1): 35-54.
14. Aranda-Michel J and Giannella RA. Acute Diarrhea: A Practical Review. *Am J Med* 1999; 106: 670-676.
15. Marshall MM, Naumovitz D, Ortega Y and Sterling CR. Waterborne Protozoan Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews* 1997; 10(1): 67-85.
16. Ortega YR and Adam RD. *Giardia*: Overview and Update. *Clinical Infectious Diseases* 1997; 25: 545-50.
17. Steiner TS, Thielman NM and Guerrant RL. Protozoal agents: What are the Dangers for the Public Water Suppl? *Annu Rev Med* 1997; 48: 329-40.
18. Zaat JOM, Mank ThG and Assendelft WJJ. A systematic review on the treatment of giardiasis. *Tropical Medicine and International Health* 1997; 2(1): 63-82.
19. Woods GL and Walker DH. Detection of Infection or Infectious Agents of Cytologic and Histologic Stains. *Clinical Microbiology Reviews* 1996; 9(3): 382-404.
20. Lewis DJM and Freedman AR. *Giardia lamblia* as an Intestinal Pathogen. *Dig Dis* 1992; 10: 102-111.
21. Wolfe MS. Giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews* 1992; 5(1): 93-100.
22. Isaac-Renton JL. Immunological Methods of Diagnosis in Giardiasis: An overview. *Annals of Clinical and Laboratory Science* 1991; 21(2): 116-122.

### Original:

1. Garcia LS, Shimizu RY, Novak S, Carroll M and Chan F. 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* 2003; 41(1): 209-212.
2. Duque-Beltran S, Nicholls-Orejuela RS, Arévalo-Jamaica A, Guerrero-Lozano R, Montenegro S and James MA. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 2002; 97(8): 1165-1168.
3. Hanson KL and Cartwright CP. Use of an Enzyme Immunoassay Does Not Eliminate the Need To Analyze Multiple Stool Specimens for Sensitive Detection of *Giardia lamblia*. *Journal of Clinical Microbiology* 2001; 39(2): 474-477.

4. Chan R, Chen J, York MK, Setijono N, Kaplan RL, Graham F and Tanowitz HB. Evaluation of a Combination Rapid Immunoassay for Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* Antigens. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38(1): 393-394.
5. Fedorko DP, Williams EC, Nelson NA, Calhoun LB and Yan SS. Performance of Three Enzyme Immunoassays and Two Direct Fluorescence Assays for Detection of *Giardia lamblia* in Stool Specimens Preserved in ECOFIX. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38(7): 2781-2783. Johnston SP, Ballard MM, Beach MJ, Causser L and Wilkins PP. Evaluation of Three Commercial Assays for Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* Organisms in Fecal Specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 2003; 41(2): 623-26.
6. Katanik MT, Schneider SK, Rosenblatt JE, Hall GS and Procop GW. Evaluation of ColorPAC *Giardia/Cryptosporidium* Rapid Assay and ProSpecT *Giardia/Cryptosporidium* Microplate Assay for Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Fecal Specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 2001; 39(12): 4523-4525.
7. Morimoto N, Komatsu C, Nishida M and Sugiura T. Detection of *Giardia lamblia* cysts in non-fixed long-term stored human feces by direct immunofluorescence assay. *Jpn J Infect Dis* 2001; 54(2): 72-4.
8. Sharp SE, Suarez CA, Duran Y and Poppiti RJ. Evaluation of the Triage Micro Parasite Panel for Detection of *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica/dispar*, and *Cryptosporidium parvum* in Patient Stool Specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 2001; 39(1): 332-334.
9. Schunk M, Jelinek T, Wetzel K and Nothdurft HD. Detection of *Giardia lamblia* and *Entamoeba histolytica* in Stool Samples by Two Enzyme Immunoassays. *Eur J Microbiol Infect Dis* 2001; 20: 389-391.
10. Garcia LS and Shimizu RY. Detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* Antigens in Human Fecal Specimens Using the ColorPAC Combination Rapid Solid-Phase Qualitative Immunochromatography Assay. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38(3): 1267-1268.
11. Garcia LS, Shimizu RY and Bernard CN. Detection of *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, and *Cryptosporidium parvum* Antigens in Human Fecal Specimens Using the Triage Parasite Panel Enzyme Immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology* 2000; 38(9): 3337-3340.
12. Maraha B and Buiting AGM. Evaluation of Four Enzyme Immunoassays for the Detection of *Giardia lamblia* Antigen in Stool Specimens. *European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases* 2000; 19: 485-487.
13. Boone JH, Wilkins TD, Nash TE, Brandon JE, Macias EA, Jerris RC and Lyerly DM. TechLab and Alexon *Giardia* Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kits Detect Cyst Wall Protein 1. *Journal of Clinical Microbiology* 1999; 37(3): 611-614.
14. Pillai DR and Kain KC. Immunochromatographic Strip-Based Detection of *Entamoeba histolytica-E. dispar* and *Giardia lamblia* Coproantigen. *Journal of Clinical Microbiology* 1999; 37(9): 3017-3019.
15. Aldeen WE, Carroll K, Robison A, Morrison M and Hale D. Comparison of Nine Commercially Available Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detection of *Giardia lamblia* in Fecal Specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 1998; 36(5): 1338-1340.
16. Burke et al. *Can J Infect Dis* 1997; 8: 33-38.
17. Garcia LS and Shimizu RY. Evaluation of Nine Immunoassay Kits (Enzyme Immunoassay and Direct Fluorescence) for Detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in Human Fecal Specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 1997; 35(6): 1526-1529.
18. Mank TG, Zaat JOM, Deelder AM, Van Eijk JTM and Polderman AM. Sensitivity of Microscopy versus Enzyme Immunoassay in the Laboratory Diagnosis of Giardiasis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 615-619.
19. Alles AJ, Waldron MA, Sierra LS and Mattia AR. Prospective Comparison of Direct Immunofluorescence and Conventional Staining Methods for Detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* spp. in Human Fecal Specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 1995; 33(6): 1632-1634.
20. Aldeen WE, Hale D, Robison AJ and Carroll K. Evaluation of a Commercially Available ELISA Assay for Detection of *Giardia lamblia* in Fecal Specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995; 21: 77-79.
21. Hiatt RA, Markell EK and Ng E. How many stool examinations are necessary to detect pathogenic intestinal protozoa? *Am J Trop Med Hyg* 1995; 53: 36-39.
22. Winiecka-Krusnell J and Linder E. Detection of *Giardia lamblia* Cysts in Stool Samples by Immunofluorescence Using Monoclonal Antibody. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995; 14(3): 218-22.
23. Zimmerman SK and Needham CA. Comparison of Conventional Stool Concentration and Preserved-Smear Methods with Merifluor *Cryptosporidium/Giardia* Direct Immunofluorescence Assay and

- ProSpecT *Giardia* EZ Microplate Assay for Detection of *Giardia lamblia*. Journal of Microbiology 1995; 33(7): 1942-43.
24. Scheffler EH and Van Etta LL. Evaluation of Rapid Commercial Enzyme Immunoassay for Detection of *Giardia lamblia* in Formalin-Preserved Stool Specimens. Journal of Clinical Microbiology 1994; 32(7): 1807-8.
  25. McLaughlin JC, Rasmussen SK, Nims LJ, Madar DA and Yazzie CR. Evaluation of Reliability of Pooling Stool Specimens from Different Patients and Detection of *Giardia lamblia* Antigen by Microtiter Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. Journal of Clinical Microbiology 1993; 31(10): 2807-2808.
  26. Rosenblatt JE, Sloan LM and Schneider SK. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of *Giardia lamblia* in stool specimens. Diagn Microbiol Infect Dis 1993; 16(4): 337-41.
  27. Tee GH, Moody AH, Cooke AH and Chiodini PL. Comparison of techniques for detecting antigens of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in feces. J Clin Pathol 1993; 46: 555-558.
  28. Garcia LS, Shum AC and Bruckner DA. Evaluation of a New Monoclonal Antibody Combination Reagent for Direct Fluorescence Detection of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in Human Fecal Specimens. Journal of Clinical Microbiology 1992; 30(12): 3255-3257.
  29. Morris AJ, Wilson ML and Reller BL. Application of Rejection Criteria for Stool Ovum and Parasite Examinations. Journal of Clinical Microbiology 1992; 30(12): 3213-3216.
  30. Addiss DG, Mathews HM, Stewart JM, Wahlquist SP, Williams RM, Finton RJ, Spencer HC and Juranek DD. Evaluation of a Commercially Available Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for *Giardia lamblia* Antigen in Stool. Journal of Clinical Microbiology 1991; 29(6): 1137-1142.
  31. Goka AK, Mathan VI, Rolston DD and Farthing MS. The relative merits of faecal and duodenal juice microscopy in the diagnosis of Giardiasis. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1990; 84: 66-67.
  32. Shetty NP, Raj IS and Macaden RS. Non-specific reactions in enzyme linked immunosorbent assays for serum antibody to *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* in non-endemic areas. J of Clin Pathol 1990; 43: 950-952.
  33. Siegel DL, Edelstein PM and Nachamkin I. Inappropriate testing for diarrheal diseases in the hospital. JAMA 1990; 263: 979-982.
  34. Rosoff JD, Sanders CA, Sonnad SS, De Lay PR, Hadley WK, Vincenzi FF, Yajko DM and O'Hanley PD. Stool Diagnosis of Giardiasis Using a Commercially Available Enzyme Immunoassay To Detect *Giardia*-Specific Antigen 65 (GSA 65). Journal of Clinical Microbiology 1989; 27(9): 1997-2002.
  35. Senay H and MacPherson D. Parasitology: diagnostic yield of stool examination. CMAJ 1989; 140(11): 1329-31.
  36. Janoff EN, Craft JC, Pickering LK, Novotny T, Blaser MJ, Knisley CV and Reller B. Diagnosis of *Giardia lamblia* Infections by Detection of Parasite-Specific Antigens. Journal of Clinical Microbiology 1989; 27(3): 431-435.
  37. Stibbs HH. Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for *Giardia lamblia* Antigen in Human Stool. Journal of Clinical Microbiology 1989; 27(11): 2582-2588.
  38. Jokipii L, Miettinen A and Jokipii AMM. Antibodies to cysts of *Giardia lamblia* in primary Giardiasis and in the absence of Giardiasis. Journal of Clinical Microbiology 1988; 26: 121-125.
  39. Stibbs HH, Samadpour M and Manning JF. Enzyme Immunoassay for Detection of *Giardia lamblia* Cyst Antigens in Formalin-Fixed and Unfixed Human Stool. Journal of Clinical Microbiology 1988; 26(9): 1665-1669.
  40. Nash TE, Herrington DA and Levine MM. Usefulness of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of *Giardia* Antigen in Feces. Journal of Clinical Microbiology 1987; 25(7): 1169-1171.

### Letter/Editorial:

1. Contreras Jaramillo R. Evaluacion del método inmunocromatografico *Giardia*-strip en la deteccion de quistes en materia fecal. Caracas, december 2004.
2. Calderaro A, Galati L, Collini L, Lorusso B, Ragni P, Dettori G and Chezzi C. Preliminary Evaluation of a New "ColorPACTM *Giardia/Cryptosporidium* Rapid Assay" for the Simultaneous Diagnosis of Infection Caused by *Giardia intestinalis* and *Cryptosporidium spp.* The journal of Eukaryotic Microbiology: Italian section society of protozoologists 21<sup>st</sup> Annual Meeting, November 9-10, 2000.

### Textbook:

1. Uptodate (online)
2. CDC, Diagnostic Procedures for Stool Specimens, last modified 2004 (<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>)

3. Mandell GL. Principles and Practice of Infectious Diseases, 2004, 6<sup>th</sup> edition. Churchill Livingstone.
4. Murray PR, Baron EJ, Tenover JC, Tenover FC. Manual of Clinical Microbiology, 2003, 8<sup>th</sup> edition. ASM Press, Washington DC.
5. Polderman AM en Rijpstra AC. Medische Parasitologie, handleiding bij de laboratoriumdiagnostiek, 1999, derde herziene druk. Bohn Stafleu Van Loghum, Houten, Nederland.
6. Garcia LS and Bruckner DA. Diagnostic Medical Parasitology, 1993, 2<sup>nd</sup> edition. ASM Press, Washington DC.

## APPRAISAL

### 1) Wat is de technische performantie van de *Giardia*-strip antigeentest?

De verschillende commercieel beschikbare tests voor het opsporen van parasieten door middel van antigeendetectie (immunofluorescentie (IF), enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) of niet-enzymatische immunoassays) staan beschreven in addendum 1. De bespreking in deze CAT is beperkt tot de meest frequent onderzochte commerciële test per categorie (zie tabel). Enkel op de sneltesten wordt dieper ingegaan omdat onze onderzochte techniek, de *Giardia*-strip (CorisBioconcept), tot deze categorie behoort. In deze CAT worden ook reeds enkele noties gegeven over het opsporen van *Cryptosporidium* en *Entamoeba* in feces, omdat de sneltesten vaak het opsporen van deze parasieten en *Giardia* combineren. Een volledig onderzoek naar de optimale detectie van *Cryptosporidium* en *Entamoeba*, is eerder onderwerp van een nieuwe CAT.

Method Antigeen- detectie	Commerciële test	Firma/verdelers	Organisme
IF (DFA)	Merifluor	Meridian	<i>Giardia</i> & <i>Cryptosporidium</i>
ELISA	ProSpecT <i>Giardia</i> Microplate Assay	Remel	<i>Giardia</i>
Sneltesten (IA)	Triage	BioSite	<i>Giardia</i> & <i>Cryptosporidium</i> & <i>Entamoeba</i>
	ProSpecT <i>Giardia</i> Rapid Assay	Remel	<i>Giardia</i>
Sneltesten	ColorPAC	Becton Dickinson	<i>Giardia</i> & <i>Cryptosporidium</i>
(Immunochromatografie)	ImmunoCard STAT	Meridian	<i>Giardia</i> & <i>Cryptosporidium</i>
	<i>Giardia</i> -strip	CorisBioconcept	<i>Giardia</i>

#### 1.1. Testprincipe

IF-technieken (vb. Merifluor) gebruiken monoclonale antistoffen gericht tegen celwandantigenen van de cysten van *Giardia* of de oöcysten van *Cryptosporidium*. Hierdoor gaan de maximale dimensies van de cysten/oöcysten fluoresceren. Zij sporen dus de intacte organismen op, terwijl met IA-technieken en sneltesten oplosbare antigenen in de feces worden gedetecteerd. Bij immunoassays worden kitafhankelijk zowel mono- als polyclonale antistoffen gebruikt. De sneltesten gebruiken monoclonale antistoffen.

De antistoffen zijn gericht ofwel tegen een *Giardia*-specifiek antigeen (GSA-65) dat kan worden teruggevonden in cysten en in mindere mate in trofozoïeten, ofwel tegen secretoire excretieproducten van het organisme die reeds vroeg in het encystatieproces worden afgegeven (zoals CWP-1). CWP-1 is zeer stabiel en wordt in grote hoeveelheden gesecreteerd. Ook het GSA-65 is stabiel en dit zowel in het gastro-intestinaal stelsel als in de fixativa. Van de immunoassays van Techlab en Remel is gekend dat zij gericht zijn tegen CWP-1, hoewel in vroegere publicaties werd beschreven dat Remel antistoffen gebruikte tegen GSA-65 (Boone et al.).



De *Giardia*-strip is een immuunchromatografische test die, met behulp van een monoclonale antistof, een membraanantigeen van de *Giardia lamblia* cyste detecteert dat wordt geëxcreteerd in feces. Het is een eenvoudige (minimale staalmanipulatie zonder noodzaak aan gesofisticeerd materiaal), snel uit te voeren en gemakkelijk te interpreteren test (ongeveer 20 minuten met inbegrip van incubatieduur; twee minuten manueel werk) die mogelijk is op een enkelvoudig staal. De volledige testprocedure is raadpleegbaar in addendum 4.

### 1.2. Patiëntvariabelen

Er zijn geen aanwijzingen van patiëntvariabelen die een invloed zouden kunnen hebben niet op de *Giardia*-strip, noch op andere antigeentesten.

### 1.3. Staalselectie (cfr. tabel)

#### **CDC-richtlijnen:**

De stoelgang dient te worden afgenomen in een droge, reine en lekvrije container zonder contaminatie met water of grond.

Afhankelijk van het type antigeentest kan het soort staal, waarop de analyse mogelijk is, verschillen.

Immunofluorescentie (IF) en immunoassay (IA) dienen te gebeuren op verse, diepgevroren of op in formaline- of 'sodium acetate-acetic acid-formalin' (SAF)-gefixeerde stalen. Met polyvinylalcohol (PVA)-behandelde stalen komen niet in aanmerking. Om lage aantallen cysten/oöcysten te detecteren bij IF is concentreren van de stoelgang ten stelligste aangeraden (Garcia et al. en Tee et al.).

Voor immunoassays daarentegen leidt concentratie tot een vermindering van het aantal antigenen, wat concentraten dan ook ongeschikt maakt voor deze categorie van testen.

Bij de snelsten varieert het staalspecimen van firma tot firma. Triage (BioSite) en *Giardia*-en *Crypto*-strip (CorisBioconcept) mogen enkel worden uitgevoerd op verse of vers bevroren stoelgang (-20°C). Bij ImmunoCard (Meridian), ColorPAC (Becton Dickinson) en bij de snelsten van Remel kan men ook met gefixeerde stalen werken (SAF, formaline). Het al of niet gebruik van in MIF-gefixeerde stalen of stalen in Cary-Blair transportmedium is sterk firma- en testafhankelijk.

Rosoff et al. onderzocht de compatibiliteit van een immunoassay (ProSpecT *Giardia*, Remel) met de meest frequent gebruikte fixativa en een transportmedium (Cary-Blair). 30 bevroren *Giardia*-positieve stalen werden verdund (1:4) in 10% formaline, SAF, Cary-Blair transportmedium of 'phosphate-buffered saline met 0,05% Tween 20' (PBS-T) als controle. De in formaline- of SAF-gefixeerde stalen werden gedurende één maand op kamertemperatuur bewaard; de stalen in Cary-Blair en PBS-T werden gedurende dezelfde tijd gestockeerd op 4°C. Behandeling van de stoelgang met één van deze agentia beïnvloedde de sensitiviteit van de IA niet significant. De gemiddeldes en standaarddeviaties van de OD-waarden ('optische densiteit bij 490 nm') bedroegen: PBS-T 1,730 (0,449); Cary-Blair: 1,667 (0,478); SAF: 1,658 (0,497) en 10% formaline: 1,556 (0,495).

Immunoassays zijn ook mogelijk op de commerciële one-vial systemen (Ecofix, Parasafe, Unifix, Proto-fix, etc.). In een studie van Fedorko et al. werden 34 positieve en 44 negatieve stoelgangstalen voor *Giardia lamblia* (via microscopie bepaald), getest met drie commerciële IA (ProSpecT *Giardia* Microplate Assay, Remel; *Giardia* Test, Techlab en Premier *Giardia lamblia*, Meridian) en twee 'direct fluorescent-antibody assay' (DFA) (*Crypto/Giardia* IF Test, Techlab en Merifluor *Cryptosporidium/Giardia*, Meridian) en dit zowel op formaline- als Ecofix-gefixeerde stalen. De resultaten op het in formaline-gefixeerde staal werden als gouden standaard gebruikt. Beide DFA en de IA van Remel behaalden goede resultaten,

terwijl dit niet het geval was bij de IA van Techlab (detectie van 20,7% van de positieve stalen in formaline) en bij de IA van Meridian (detectie van 66,7% van de positieve stalen in formaline).

#### Staalselectie per antigeentest

Antigeentest	Vers/ vers bevoren	Gecon- centreerd	Preservatieven		
			formaline	SAF	PVA
<b>DFA</b>					
Merifluor (Meridian)	+	+	+	+	/
<b>EIA</b>					
ProSpecT <i>Giardia</i> Microplate Assay (Remel)	+	/	+	+	/
<b>Sneltesten</b>					
<i>Giardia</i> strip (Coris Bioconcept)	+	/	/	/	/
<i>Crypto</i> strip (Coris Bioconcept)	+	/	/	/	/
ColorPAC (Becton Dickinson)	+	/	+	+	/
Triage (BioSite)	+	/	/	/	/
ImmunoCard STAT (Meridian)	+	/	+	+	/
ProSpecT <i>Giardia</i> Rapid Test kit (Remel)	+	/	+	+	/
ProSpecT <i>Crypto</i> Rapid Test kit (Remel)	+	/	+	+	/

\* Ook niet-geconcentreerde stalen kunnen worden gebruikt

#### 1.4. Staalstabiliteit

##### CDC-richtlijnen:

Voor microscopisch onderzoek moet de analyse onmiddellijk gebeuren: binnen de 30 minuten na collectie voor een vloeibaar staal, binnen het uur voor halfvaste stalen en binnen de 24 uur voor gevormde stalen. Indien dit niet mogelijk is, moeten preservatieven worden toegediend. Indien men deze niet onmiddellijk kan toevoegen, moet de stoelgang bewaard worden op 4°C (niet invriezen!) tot maximum 48 uur.

Voor antigeentesten mag het staal gedurende 24 uur op 4°C worden bewaard zonder preservatieven (onafhankelijk van de consistentie van het staal). Is dit niet mogelijk, dan wordt het staal best bevroren op -20°C of worden best preservatieven toegediend.

Hoe kunnen stalen het best langdurig worden bewaard?

Volgens Rosoff et al. (niet gepubliceerde gegevens) blijven stalen voor antigeentesten gedurende zes maanden stabiel indien ze gefixeerd worden in formaline of SAF en gedurende twaalf maanden indien men ze invriest. Dit is belangrijk voor de rol van antigeentesten in epidemiologisch onderzoek (zie verder).

Addiss et al. toonden aan dat de antigenen niet langdurig stabiel zijn in 10% formaline op kamertemperatuur. De OD-waarden, afgelezen bij de ProSpecT *Giardia* Microplate Assay van formaline-geconcentreerde positieve controlestalen, daalden sterk in de eerste week, gevolgd door een gradueel dalen gedurende de volgende negen maanden (van een gemiddelde van 1,1 de eerste maand naar een gemiddelde van 0,24 tijdens de negende maand). Dit is een totale daling van 78,2% (met een gemiddelde per maand van 8,7%).

Morimoto et al. onderzocht gekende positieve stalen die gedurende meer dan één jaar op 5°C en op -20°C werden bewaard. DFA detecteerde alle positieve stalen (gedegenereerde cysten werden nog opgemerkt), terwijl bij microscopie niet alle positieve stalen meer konden worden weerhouden (56% op 5°C en 93% op -20°C). Indien stalen langdurig moeten worden bewaard is bijgevolg immunofluorescentie te prefereren boven microscopie voor het opsporen van *Giardia*.

### ***1.5. Reproduceerbaarheid, accuraatheid, correlatie met de huidige methode, lineariteit, analytisch meetbereik en interferenties***

Een algemene opmerking is hier de gegevensschaarste. Performantiekarakteristieken zijn quasi onbestaande of zijn door de fabrikant opgegeven.

Hieronder zal een beknopt overzicht worden gegeven van de beschikbare gegevens over de *Giardia*-strip (CorisBioconcept).

#### Reproduceerbaarheid:

Voor de *Giardia*-strip worden door de firma de volgende gegevens opgegeven voor wat betreft de reproduceerbaarheid.

#### *Intra-assay variabiliteit:*

Eén *Giardia lamblia*-positief staal werd 15 maal getest met dezelfde batch van *Giardia*-strip kits. In parallel hiermee werd ook de dilutiebuffer op dezelfde wijze 15 maal getest. De resultaten waren correct in 100% van de gevallen. Twee gekleurde lijnen (controle- en positieve lijn) verschenen bij de 15 testen met het positieve staal, terwijl maar één gekleurde lijn (de controlelijn) verscheen bij de testen met de dilutiebuffer.

#### *Inter-assay variabiliteit:*

Eén *Giardia lamblia*-positief staal werd driemaal getest met drie verschillende batchen van *Giardia*-strip kits. In parallel hiermee werd ook de dilutiebuffer op dezelfde wijze driemaal getest. De resultaten waren correct in 100% van de gevallen. De drie batchen gaven positieve resultaten voor de *Giardia lamblia*-positieve stoelgang en negatieve resultaten voor de dilutiebuffer.

#### Correlatie met de huidige methode en accuraatheid:

Ongepubliceerde gegevens van de fabrikant:

In een eerste studie werden de resultaten van de *Giardia*-strip vergeleken met microscopisch onderzoek en een ELISA-test (uitgevoerd op 70 stoelgangstalen afkomstig van België, Spanje en het Verenigd Koninkrijk). In een tweede studie werd een vergelijking gemaakt tussen de *Giardia*-strip en microscopie in een eerste fase en de strip en een enzymatische immunoassay in de tweede fase (zie onderstaande tabel).

Voor onze eigen evaluatie van de *Giardia*-strip werden van december tot half mei alle positieve microscopische onderzoeken voor parasieten verzameld. Ook de positieve stalen van het Medisch Centrum voor Huisartsen (MCH) te Leuven werden geïncubeerd onder leiding van Apotheker M. Lontie. Deze verzameling werd aangevuld met enkele routinestalen en stoelgangstalen positief voor *Staphylococcus aureus* of andere parasieten (voor het evalueren van een eventuele kruisreactie: zie interferenties). De niet gefixeerde, niet-geconcentreerde stalen werden bewaard op  $-20^{\circ}\text{C}$ . De resultaten van de analyses staan, naast de gegevens van de fabrikant, vermeld in onderstaande tabel.

<b>Giardia-strip</b>	<b>Sensitiviteit (%)</b>	<b>Specificiteit (%)</b>	<b>Accuraatheid (%)</b>	<b>NPW (%)</b>	<b>PPW (%)</b>	<b>Totaal aantal stalen (aantal positieve stalen)</b>	<b>Referentiemethode</b>
Studie 1 fabrikant	91,6	93,5	92,9	95,5	88,0	70 (24)	Microscopie & EIA
Studie 2 fabrikant	77,8	85,7	80,0	60,0	93,3	25 (18)	Microscopie
FASE 1 Studie 2 fabrikant	73,7	100,0	79,2	50,0	100,0	24 (19)	EIA
FASE 2 Eigen studie	93,8	96,9	95,8	96,9	93,8	48 (16)	Microscopie

Er wordt door de fabrikant geen verklaring gegeven voor de verminderde performantiegegevens van de test in de tweede studie.

In onze eigen studie werden twee discordante stalen (verschil in resultaat tussen de *Giardia*-strip en microscopie) genoteerd. De microscopie van het valsnegatieve staal werd herhaald op feces in SAF gefixeerd. Deze was duidelijk positief met een voorkomen van ongeveer 13 *Giardia lamblia* cysten per veld. De *Giardia*-strip herhaald op het SAF-gefixeerde staal was zwakpositief (uitvoeren van de test op een gefixeerd staal wordt echter niet aangeraden door de fabrikant). Bij het valspositieve staal bleef de microscopie bij controle negatief. Na contact met de klinici bleek het hier om een patiënt te gaan met chronische diarree die bovendien immuungecompromitteerd was en recentelijk naar Tunesië was gereisd. Omwille van deze klinische verdenking op Giardiasis werd een nieuw controlestaal gevraagd dat echter ook negatief bleef. Bij gebrek aan beschikbare antigeentesten kon de *Giardia*-strip niet meer worden herhaald op dit tweede staal. Opvolging van de patiënt door middel van microscopisch onderzoek is dan ook aangewezen. Volgende kruisreacties werden in onze eigen studie onderzocht en negatief bevonden: *Endolimax nana* (8), *Entamoeba coli* (8), *Entamoeba histolytica* (4), *Staphylococcus aureus* (3) en *Ancylostoma* (1).

#### Lineariteit:

Geen gegevens

#### Analytisch meetbereik:

Wanneer zijn de verschillende soorten antigeentesten positief?

Bij visualisatie van fluorescerende cysten/oöcysten wordt de Merifluor (Meridian) als positief beschouwd. Deze test heeft een zeer hoge sensitiviteit (zie verder), ook indien maar weinig cysten/oöcysten aanwezig zijn (Garcia et al.) en kan ook een kwantitatieve meerwaarde bieden.

Immunoassays daarentegen worden gebruikt voor een kwalitatieve detectie van *Giardia*-specifieke antigenen in de stoelgang. Bij de ProSpecT *Giardia* Microplate Assay (Remel) wordt een cut-off van 0,04 gehanteerd als OD-waarde ('optische dichtheid bij 490 nm'). In een studie van Addiss et al. gaf deze cut-off een sensitiviteit van 98% met een specificiteit van 100%. Hier werd ook aangetoond dat er een goede correlatie bestaat tussen het visueel aflezen van de ProSpecT en het spectrofotometrisch aflezen. Er is geen correlatie tussen het aantal cysten/trofozoïeten en optische dichtheidwaarden verkregen via IA. De antigeentesten detecteren immers vrije antigenen in plaats van volledige cysten (Duque-Beltran et al.).

De sneltesten (*Giardia*-strip, ColorPAC, ImmunoCard STAT en Triage) kunnen als positief worden afgelezen bij het verschijnen van een kleurstreep (hoe zwak de intensiteit ook moge zijn), ter hoogte van de plaats waar de antistoffen tegen *Giardia lamblia* geïmmobiliseerd zijn

op de teststrip. Niet in de literatuur, noch in de bijsluiters van de fabrikanten wordt er gesproken over een specifiek analytisch meetbereik voor *Giardia* bij de sneltesten. Er werden wel problemen in de literatuur gemeld indien het aantal cysten/trofozoïeten zeer laag was (Pillai et al., Johnston et al., etc.).

#### Interferenties:

Katanik et al. rapporteerde een verhoogd aantal valspositieve stalen (in vergelijking met ColorPAC en microscopie) bij gebruik van de ProSpecT *Giardia/Cryptosporidium* Microplate Assay (Remel) op formaline-gefixeerde, niet-geconcentreerde stalen. Bij nazicht bleek het hier om bloederige stalen te gaan. Interferentie van de antigeentesten met bloed werd nergens anders in de literatuur vermeld.

Tal van mogelijke kruisreacties met andere protozoa, wormen, gisten en bacteriën werden voor de verschillende antigeentesten ter bepaling van *Giardia lamblia* in de literatuur negatief bevonden. In één studie (Rosoff et al.) was er een positieve ProSpecT *Giardia* test bij een staal gekend met *Ascaris lumbricoïdes* en een staal gekend met *Entamoeba coli*. Bij navraag bleek het hier te gaan om stoelgangstalen van patiënten met Giardiasis in de familie. Mogelijks ging het om cryptische casussen van Giardiasis (stoelgangstalen negatief en antigeentesten of dundarmspecimens positief).

Volgende kruisreacties werden uitgevoerd door de fabrikant van de *Giardia*-strip en negatief bevonden:

*Acinetobacter lwoffii*, *Campylobacter jejuni*, *Aeromonas hydrophila*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Helicobacter pylori*, *Yersinia enterocolitica* O1, *Yersinia enterocolitica* O3, *Yersinia enterocolitica* O9, *Rotavirus*, *Adenovirus* (A tot F groepen), *Adenovirus* 40/41, *Campylobacter coli*, *E. coli* O117:H7, *E. coli* O55:H7, *E. coli* O157 VT neg (EH431), *E. coli* O157 VT neg (EH546), *E. coli* O157:H19, *E. coli* O7:H1, *E. coli* O116:H-, *E. coli* K99, *Cryptosporidium parvum*, *Escherichia hermannii*, *Brucella melitensis* en *Brucella abortus*.

Ook kon er in één studie van de *Giardia*-strip (Rosa Contreras Jaramillo) geen kruisreactiviteit van de strip met één van de andere parasieten worden weerhouden.

De fabrikant meldde echter een positieve kruisreactie met *Staphylococcus aureus*. Het positieve resultaat kwam voor bij een *Staphylococcus aureus*-concentratie van  $10^8$  tot  $10^9$  CFU/ml. Deze kruisreactie werd niet bevestigd in onze beperkte studie.

#### **1.6. Turn around time (TAT)**

Microscopisch onderzoek voor parasieten wordt dagelijks uitgevoerd. De te analyseren stalen worden verzameld tot één reeks per dag omdat de procedure van concentreren dan eenvoudiger en minder tijdrovend is. De TAT is dus zeer variërend en afhankelijk van het uur van aankomst van het staal in het laboratorium. Indien het staal arriveert voor de middag, is het resultaat ten laatste om 17.00u gekend. Stalen die echter in de namiddag of vooravond toekomen, worden op 4°C overnacht bewaard en worden mee in de run van de volgende dag uitgevoerd. In het weekend of op feestdagen worden geen parasitologische analyses uitgevoerd. Dit betekent dat het resultaat van een staal dat vrijdagmiddag arriveert, pas maandagavond gekend zal zijn.

De immunoassay van Remel (ProSpecT *Giardia* Microplate Assay) kan worden uitgevoerd op 1u45min (incubatieduur inbegrepen). Deze stalen dienen ook best in run te worden uitgevoerd, zodat de TAT in de praktijk niet zoveel zou verschillen van de TAT voor het microscopisch onderzoek. Het werkelijke manuele werk (pipetteren, wasstappen, aflezen) door de laboranten neemt wel af. Hetzelfde geldt voor Merifluor (Meridian). Enkel de sneltesten zouden in theorie de TAT opmerkelijk kunnen verkorten. Deze antigeentesten kunnen zeer eenvoudig per staal worden uitgevoerd en het resultaat is na 15-20min gekend

(‘hands-on time’: één tot twee minuten). In theorie kunnen deze testen ook op de raadpleging worden gebruikt (zeer eenvoudige procedure en resultaat zeer gemakkelijk interpreteerbaar).

### 1.7. KAL (*clinical tolerance limits*)

Geen gegevens

## 2) Wat is de klinische performantie van de *Giardia*-strip antigeentest?

### 2.1. *Sensitiviteit-Specificiteit*

Verschillende studies werden in de jaren '80 en '90 gepubliceerd waarin het opsporen van antigenen van *Giardia lamblia* in feces door middel van immunofluorescentie en immunoassay onder de loep werd genomen. De laatste jaren werden ook studies over sneltesten gepubliceerd. Door het gebrek aan een echte gouden standaard voor parasitologisch onderzoek is het berekenen van sensitiviteit en specificiteit van de geëvalueerde testen in de verschillende publicaties problematisch. Meestal wordt het microscopisch onderzoek als referentiemethode gebruikt (soms immunofluorescentie). Microscopie als referentie schept problemen wegens de beperkte sensitiviteit van éénmalige analyses. In de meeste studies werd men dan ook geconfronteerd met een aantal valspositieven met de geëvalueerde antigeentest t.o.v. het microscopisch onderzoek, waarbij men de vraag moet stellen of het hier niet wel echt om een positief staal ging (gemist door de microscopie). Om dit te verifiëren (valspositief of echt positief), werden in de verschillende studies verschillende technieken toegepast. Dit leidde meestal tot een vermindering van het aantal valspositieven (de positiviteit van de geëvalueerde test werd bevestigd met de bijkomende toegepaste techniek), wat de performantiegegevens sterk verbeterde. De verschillende toegepaste technieken bij het herevalueren van de gedetecteerde valspositieve stalen waren: vergelijking met immunofluorescentie of een immunoassay (of een assay van een andere firma); herhaling van microscopie en/of geëvalueerde test op hetzelfde staal of een staal afgenomen op een ander tijdstip van dezelfde patiënt; het bestuderen van parasitaire voorgeschiedenis, familiale en geografische geschiedenis van de betrokken patiënt. Dit maakt het vergelijken van de verschillende publicaties moeilijk. De vergelijkbaarheid wordt ook bemoeilijkt door verschillen in de testpopulatie (symptomatische patiënten? routinestalen?).

Slechts één niet in een officieel tijdschrift gepubliceerde literatuurstudie is teruggevonden over de *Giardia*-strip. Het betreft een onderzoek onder leiding van **Rosa Contreras Jaramillo** uitgevoerd aan de Centrale Universiteit van Venezuela (Medisch Tropisch Instituut). 100 routinestalen werden met de *Giardia*-strip en microscopisch onderzoek getest (directe methode en onderzoek na concentratie). Men bekwam een sensitiviteit van 100,0% en een specificiteit van 98,9%. Deze studie is echter maar van beperkte waarde omdat er maar twee (2!) positieve *Giardia*-stalen in de studie betrokken waren en omdat er onvoldoende gegevens staan vermeld omtrent testomstandigheden, etc.

Evaluatie van literatuurgegevens omtrent sensitiviteit en specificiteit van de belangrijkste antigeentests staan vermeld in addendum 5. De gegevens voor *Giardia* staan samengevat weergegeven in onderstaande tabel.

Test	Methodiek	Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)
Merifluor	DFA	99,2-100,0	99,8-100,0
ProSpecT <i>Giardia</i> Microplate Assay	ELISA	91,0-100,0	98,0-100,0
<i>Giardia</i> -strip	Sneltest	100,0	98,9
Color PAC		96,0-100,0	95,1-100,0
Triage		83,3-100,0	97,4-100,0
ImmunoCard STAT		81,3-93,5	99,5-100,0
ProSpecT <i>Giardia</i> Rapid Assay		87,2-95,0	100,0

Merifluor behaalt de beste sensitiviteit en specificiteit voor het opsporen van *Giardia* volgens verschillende literatuurstudies en wordt dan ook meer en meer als referentiemethode ('gouden standaard') naar voor geschoven. De sensitiviteit van Merifluor is hoger dan het klassieke microscopisch onderzoek voor *Giardia* en hoger of gelijk aan de sensitiviteit van het klassieke microscopisch onderzoek voor *Cryptosporidium*. Onder de sneltesten scoort de ColorPAC momenteel het best (gegevens voor de *Giardia*-strip steunen maar op één, niet officieel gepubliceerde studie).

Valsnegatieve stalen bij de antigeentesten (antigeentest negatief en microscopie positief) komen voornamelijk voor bij lage aantallen cysten of trofozoïeten. In een studie van Addiss et al. werden door microscopie 99 op 633 stoelgangstalen van kinderen in een dagverblijf positief bevonden (15,6%). Van 93 op 99 stalen (93,9%) werd de positiviteit bevestigd door de ProSpecT *Giardia* Microplate Assay. De zes gemiste stalen door de IA bevatten elk minder dan vijf cysten per slide of bij één staal slechts enkele trofozoïeten. Ook de lagere sensitiviteit van ImmunoCard en Triage in de studies van Johnston et al. en Pillai et al. zijn te wijten aan het missen van stalen met weinig cysten/trofozoïeten. Verder dient te worden opgemerkt dat Triage geen onderscheid kan maken tussen de pathogene *Entamoeba histolytica* en de niet-pathogene *Entamoeba dispar*. Naast zijn mindere sensitiviteit wordt in de literatuur de afleesbaarheid van de Triage als een probleem gemeld. In een studie van Sharp et al. moest zelfs 4,2% van de stalen herhaald worden omdat de initiële test niet correct afleesbaar was.

## 2.2. Likelihood ratio's (LR)

Geen gegevens

## 2.3. NND (number needed to diagnose)

Zoals in de inleiding reeds beschreven, is de sensitiviteit van een éénmalig microscopisch onderzoek voor het opsporen van parasieten beperkt (50-80%) (Burke et al. en Hiatt et al.). Daarom wordt ook door de meeste auteurs aanbevolen microscopie uit te voeren op drie opeenvolgende stalen (in een tijdsperiode van zeven tot tien dagen met optimaal 48 uur tussen) vooraleer een uitslag definitief als 'parasieten negatief' mag worden doorgegeven.

Hoeveel stalen zijn echter vereist bij de antigeentesten?

Mank et al. voerde een prospectieve studie uit op 366 patiënten die reeds meer dan één week diarree (intermittent of persisterend) ondervonden. Twee stalen in een tijdsperiode van tien dagen werden afgenomen en bewaard in SAF (op kamertemperatuur) en gebruikt bij microscopisch onderzoek en het opsporen van antigenen met de ProSpecT *Giardia* GSA-65 test kit van Remel en de Celisa van Cellabs. In eerste instantie werden de resultaten van de IA, uitgevoerd op één staal, vergeleken met de microscopische onderzoeken op één en twee stalen. En ten tweede, werden de resultaten van de verschillende diagnostische tests vergeleken met de optimale methode (totaal aan patiënten die positief waren voor *Giardia* met microscopie of EIA op één van de twee of beide stalen). De prevalentie van *Giardia* in deze

studie bedroeg 15%. Microscopie op het eerste staal gaf een sensitiviteit van 80% (ten aanzien van de optimale methode), terwijl ze voor het tweede staal opklom tot 96,4%. De sensitiviteit van de IA op één staal was 92,7% voor de ProSpecT en 87,3% voor de Celisa. De negatieve predictieve waarden (NPW) bedroegen 98,7% voor Remel en 97,8% voor Cellabs op één staal, tegenover 99,4% voor microscopie op twee stalen (NPW op één staal: 96,6%). Hieruit werd besloten dat de EIA significant meer sensitief was dan microscopisch onderzoek op één staal. De auteurs gaven dan ook de voorkeur aan een éénmalig uitgevoerde antigeentest (in plaats van twee microscopische onderzoeken) bij de initiële screening naar *Giardia* als oorzaak van diarree (de NPW van één EIA verschilde immers slecht lichtjes van de NPW van twee microscopische onderzoeken). Deze voorkeur voor antigeentesten ten opzichte van microscopisch onderzoek bij het testen van maar één staal (omwille van de hogere sensitiviteit) werd bevestigd door andere studies: Addiss et al., Aldeen et al., Garcia et al., Katanik et al., etc.

Hanson et al. konden de stelling van Mank et al. echter niet bevestigen. Zij verzamelden gepaarde stoelgangstalen (binnen een periode van 7 dagen) van 103 patiënten. 54 stalen van 30 patiënten waren positief (18 asymptomatisch geïnficeerden tegenover 12 symptomatische patiënten). Bij discordantie (microscopie negatief, EIA positief) werd een staal als positief beschouwd indien de EIA bij herhaling positief was en de microscopie op het andere staal positief was; de EIA van het andere staal ook bij herhaling positief was of de EIA van het andere staal negatief was maar de patiënt symptomatisch was en ondertussen werd behandeld. Voor de EIA werd in deze studie de ProSpecT van Remel gebruikt. Beide specimens waren positief bij microscopisch onderzoek van de positieve stalen in 66,7%; bij 26,7% was één staal positief en bij 6,7% kon de microscopie geen *Giardia* waarnemen. In de symptomatische groep was de detectie van *Giardia* in beide stalen hoger dan in de asymptomatische groep (75% tegenover 61%). Bij 80% van de positieve patiënten was de EIA positief in beide stalen; bij 13,3% was één specimen positief en bij 6,5% bleef de antigeentest negatief. De sensitiviteit van de EIA was minder afhankelijk van de aan- of afwezigheid van symptomen (83% versus 77%). Om een sensitiviteit hoger dan 90% te bereiken was in deze studie een antigeentest op één staal onvoldoende (sensitiviteit van 80%). De hogere sensitiviteit bij de studie van Mank et al. van de antigeentest op één staal werd door deze auteurs verklaard door het enkel testen van symptomatische patiënten in hun studie. Hanson et al. raden EIA aan op één staal bij een lage enterische prevalentie op parasitaire infecties, terwijl bij een hoge prevalentie en een verhoogd risico op Giardiasis twee stalen worden aanbevolen. De bevindingen van Mank et al. krijgen echter meer aanhang in de literatuur.

### **3) Wat is de impact van de *Giardia*-strip antigeentest op het therapeutisch beleid en de prognose van de patiënt?**

#### ***3.1. Diagnostisch aspect***

##### **Belang van het opsporen van *Giardia lamblia*:**

Zoals in de inleiding reeds besproken werd, kan het opsporen van parasieten als voldoende belangrijk worden beschouwd. Een positief resultaat heeft immers therapeutische consequenties, maar ook met het oog op transmissie (Volksgezondheid) heeft de uitslag van het onderzoek belang. Het wordt in de meeste richtlijnen en literatuur aanbevolen alle gevallen van bewezen Giardiasis te behandelen, ook al is de patiënt asymptomatisch. De infectie kan immers subklinische malabsorptie veroorzaken en een drager is ook besmettelijk voor zijn omgeving. Dragerschap van *Giardia lamblia*, dat kan variëren van enkele weken tot enkele maanden, wordt verkort door de behandeling. In Up-to-date wordt echter aangeraden niet alle asymptomatische patiënten te behandelen, maar enkel die waar een groot gevaar voor



transmissie bestaat (kinderen in kinderdagverblijven, gezondheidswerkers, koks, etc.). In de Verenigde Staten gaat de voorkeur naar behandeling met metronidazole 250mg (3x/D) gedurende vijf tot zeven dagen bij volwassenen (effectiviteit 80-95%). Na therapie zien we regelmatig een herinfectie van de patiënt tengevolge van doorgaande cystenuitscheiding bij gezinsleden. Daarnaast werd ook resistentie tegen de meest gebruikte geneesmiddelen (metronidazole en tinidazole) beschreven. Belangrijk is echter om te kijken of de opnieuw optredende diarree niet het gevolg is van een lactose-intolerantie (bij 20-40%). Parasitologische controle na therapie wordt dus aangeraden (ongeveer vier weken na stopzetten van de therapie).

### **Welke meerwaarde bieden antigeentesten ten opzichte van microscopisch onderzoek?**

Een oplossing voor de lage sensitiviteit van het microscopisch onderzoek op één staal voor het opsporen van *Giardia* kan worden aangereikt op verschillende manieren: 1) microscopisch onderzoek op een tweede en derde staal; 2) het gebruik van meer invasieve technieken voor het bekomen van dundarmspecimens voor het opsporen van trofozoïeten, 3) het gebruik van antigeentesten of 4) het poolen van stoelgangstalen. Naast enkele praktische voordelen (minder MLT-uren door een vermindering van het aantal vereiste stalen en minder manueel werk bij de procedures; minder vereiste ervaring van de MLT bij het interpreteren van de test, verkorting van de TAT), geven vooral de hoge sensitiviteit en specificiteit op één staal een meerwaarde aan de antigeentesten ten opzichte van microscopie. De kostprijs van de kits en het niet kunnen opsporen van alle parasieten (wat het schrappen van het microscopisch onderzoek onmogelijk maakt) vormen de belangrijkste nadelen.

In een aantal publicaties (Addiss et al., Alles et al., Sharp et al., Garcia et al., etc.) worden een aantal omstandigheden geschetst waarin de antigeentesten te prefereren zijn boven microscopie en eventueel deze laatste zouden kunnen vervangen.

Het betreft de volgende indicaties:

1. Diagnostiek van klinisch zeer sterk voor Giardiasis verdachte patiënten (chronische, persisterende diarree geassocieerd met malabsorptie en gewichtsverlies bij hoogrisicopatiënten). Indien de antigeentest negatief is en de symptomen persisteren moet zeker worden overgegaan tot een bijkomende staalafname en microscopie;
2. Vervangen van invasieve diagnostiek (afname dundarmspecimens) voor de cryptische casussen van Giardiasis;
3. Outbreaks van *Giardia* via besmet water of voedsel;
4. Screenen naar dragers van *Giardia* en epidemiologisch onderzoek;
5. Follow-up in de therapie van patiënten met Giardiasis.

Vooraf bij 3. en 4. speelt het feit dat door middel van antigeentesten grote hoeveelheden stalen op korte tijd kunnen getest worden een rol. De test is dan ook ten sterkste aanbevolen bij het screenen van kinderen in kinderdagverblijven, het opsporen van dragers in de voedingsindustrie en de gezondheidssector, etc.

Het belang van de antigeentest (qua sensitiviteit) en zijn gebruik bij het opvolgen van de therapie wordt nog maar eens beklemtoond in volgende studie. Nash et al. plaatsten personen, *Giardia* negatief, gedurende een hele tijd in afzondering en inoculeerden ze met *Giardia*. Hun eten werd gecheckt op parasieten en zij mochten het studiegebied niet verlaten. Alle stoelgangen werden 's morgens bewaard en onderzocht (D-2 tot D19). Stalen gecollecteerd op andere tijdstippen werden bewaard in formaline op 4°C of op -70°C. Antigeentesten (EIA) werden uitgevoerd op de bevroren stalen. De meeste personen werden infectieus na 6-9 dagen. 73 op 203 stalen waren microscopisch positief, terwijl hiervan 69 stalen antigeenpositief waren (sensitiviteit 94,5%). 35 stalen waren antigeenpositief, terwijl hun microscopie negatief bleef. Dit zijn voornamelijk stalen gecollecteerd tijdens de behandeling en in de periode die het verschijnen van de symptomen voorafging (dag 0 tot dag 5). Tijdens

de behandeling sterven de trofozoïeten/cysten af, waardoor de antigenen vrijkomen. Vanaf dag negen van de therapie kon meestal geen antigeen meer worden aangetoond (bij sommige personen was de stoelgang nog antigeenpositief na twee tot zestien weken). Tijdens de infectieuze periode (6-14 dagen) waren 71 stalen antigeenpositief en 65 stalen microscopisch positief: 9 stalen waren antigeenpositief zonder dat cysten konden worden aangetoond en drie stalen waren positief op cysten maar antigeen negatief. De overige positieve stalen waren voor beide methoden positief. Ook in deze studie werd dus de betere sensitiviteit van antigeentesten ten aanzien van microscopie onderstreept.

### ***3.2. Impact op de behandeling en de prognose van de patiënt***

Er zijn geen studies uitgevoerd die de impact van de antigeentesten op het beleid bij parasitaire infecties en de prognose hebben geëvalueerd.

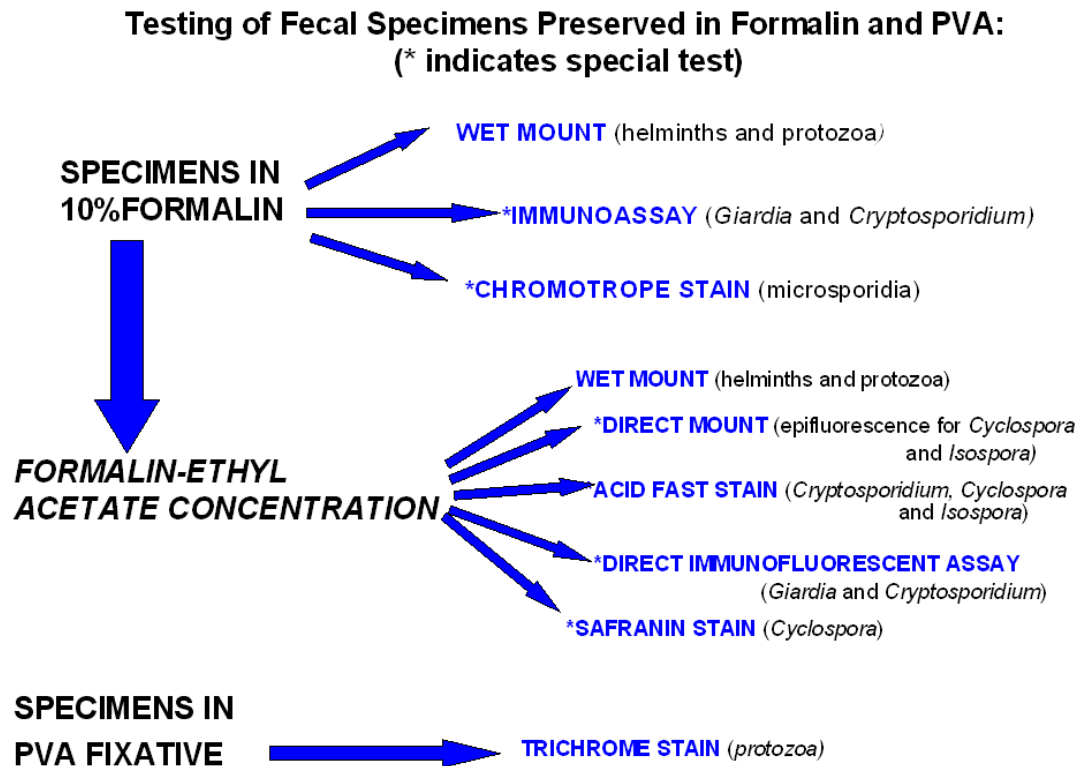
## **4) Wat is de impact van de *Giardia*-strip antigeentest organizationeel?**

### ***4.1. Impact in het ziekenhuis***

De staalcollectie bij een aanvraag naar opsporen van parasieten in stoelgang verandert niet ten opzichte van de huidige methode. Praktisch is wel het uitvoeren van de test op de consultatie of op de verpleegafdeling een mogelijkheid. Voor een mogelijke financiële impact in het ziekenhuis wordt verwezen naar punt 5).

### ***4.2. Wat wordt er aanbevolen in de guidelines?***

De CDC-richtlijnen beschrijven de antigeentesten als aanvaardbare testen ter versterking van het standaard microscopisch onderzoek bij het opsporen van parasieten in stoelgang. De hogere sensitiviteit (samen met een hoge specificiteit), de snelheid van uitvoering (ongeveer 15 minuten voor de sneltesten) en de éénduidige interpretatie (zonder vereiste ervaring) worden omschreven als het grote voordeel van de testen. Bij CDC gaat de voorkeur uit naar een immunofluorescentietechniek namelijk Merifluor van Meridian, bij voorkeur uitgevoerd op een geconcentreerd staal.

**Richtlijnen CDC:**

Net zoals bij CDC en in de Manual of Clinical Microbiology, wordt in de meeste publicaties aangeraden de antigeentest te gebruiken in combinatie met een klassiek microscopisch onderzoek. De antigeentesten sporen immers maar één of enkele parasieten op (*Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* en *Entamoeba histolytica*). Ze zouden echter de opbrengst aan geïdentificeerde parasieten moeten verhogen, voornamelijk bij onderzoek op één staal. Toch zijn er enkele studies waar de vervanging van het microscopisch onderzoek door de antigeentesten wordt voorgesteld in enkele zeer strikte indicaties (vermeld bij 3.1 diagnostisch aspect). Deze stelling wordt echter nergens bevestigd in specifieke richtlijnen. Thomas et al (Guidelines for the investigation of chronic diarrhoea; Gut, 2003) promoot wel het gebruik van antigeentesten ter vervanging van de meer invasieve diagnostische methoden (microscopisch onderzoek op dundarmspecimens). Deze stelling wordt bijgetreden door Isaac-Renton.

**5) Is het gebruik van de Giardia-strip antigeentest kosteneffectief?****5.1. Actuele kost**

De kosten van een test worden bepaald door een veelheid aan factoren: reagentia, manueel werk (MLT-uren), aantal vereiste stalen, nood aan een kwaliteitscontrole, bewaren van reagentia en stalen, ervaring en opleiding.

Voor het microscopisch onderzoek naar parasieten in feces:

Reagentia en 'consumables':	€0,14
Werkvloer + logistiek:	€4,99
Totaal:	€8,06
Totaal bij drie onderzoeken:	€24,18

Opsporen *Cryptosporidium* €8,40 (additioneel)

Logischerwijze ligt de prijs aan reagentia bij de antigeentesten veel hoger dan bij het microscopisch onderzoek. De inbreng van de loonkosten daalt echter doordat deze testen heel wat minder manueel werk vereisen. Bovendien is het aantal vereiste testen lager (één tegenover drie) waardoor het prijsverschil beperkt is of zelfs in het voordeel van de antigeentest. In onderstaande tabel staan de verschillende prijzen van de verschillende kits voor antigeendetectie van *Giardia lamblia* neergeschreven.

Test	Firma	Prijs per test (€)
Merifluor	Meridian	5,77 *
ProSpecT <i>Giardia</i> Microplate Assay	Remel	4,77 *
ProSpecT <i>Giardia</i> Rapid Assay	Remel	11,35 *
Triage	BioSite	19,6
<i>Giardia</i> -strip	CorisBioConcept	5,4 **
Color PAC	Becton Dickinson	13,2
ImmunoCard STAT	Meridian	13,11

\* Literatuurgegevens (gegevens van eind jaren '90 – begin 2000)

\*\* Crypto-strip (CorisBioConcept): €2,87 per test

## 5.2. Nomenclatuur

Het opsporen van parasieten in feces valt onder 'Opzoeken van parasieten, na verrijking, in feces (Maximum 1) Klasse 16' (nummers 549813 en 549824). Hieraan is een B400 gekoppeld. Er is geen verschil voor een ambulante of gehospitaliseerde patiënt.

Hierbij dient te worden opgemerkt dat voor het opsporen van *Cryptosporidium* een afzonderlijke nomenclatuurregel is voorzien. Het betreft nummers 549872 en 549883 ('Opzoeken van *Cryptosporidium*, na verrijking in feces (maximum 1) Klasse 16), waaraan ook een B400 is gekoppeld.

## 5.3. Financieel voordeel elders in het ziekenhuis

Theoretisch gezien zou, door het vroeger stellen van de diagnose van Giardiasis (één antigeentest tegenover meerdere microscopische onderzoeken; kortere TAT van de sneltesten), een diagnostisch probleem van chronische diarree vroeger kunnen worden opgelost. De rationale is dat bij een positieve antigeentest verdere diagnostiek (door middel van coloscopie, heerkunde, etc.) stopgezet kan worden door de hoge specificiteit van de test, wat een kostenbesparing kan opleveren. Misschien kan ook hospitalisatie omwille van dehydratie, malabsorptie, etc. vermeden worden indien de diagnose van Giardiasis tijdig wordt gesteld (voornamelijk in de pediatrische populatie). Er werden geen prospectieve studies in de literatuur weerhouden die de kosteneffectiviteit van de antigeentest bij patiënten met chronische diarree hebben geëvalueerd.

## OPMERKINGEN EN 'TO DO'S'

Opmerking 1:

Wanneer is een parasitaire analyse negatief?

Het niet vinden van een parasiet wil niet zeggen dat de patiënt die parasiet niet herbergt. De schommelingen in bv. de cystenuitscheiding zijn zo groot dat uitslagen als 'geen parasiet' of 'negatief' te allen tijden vermeden moeten worden. Beter is het bij het niet vinden van eieren of cysten bij fecesonderzoek als uitslag te geven 'geen eieren of cysten gevonden' of 'geen

parasieten gevonden'. Een toevoeging in de zin van 'bij blijvende verdenking op een parasitaire infectie is herhaling van het onderzoek geïndiceerd' kan verstandig blijken. Deze richtlijnen maken een wijziging van ons huidige manier van rapporteren eigenlijk noodzakelijk.

#### Opmerking 2:

In de literatuur staat een maximum bewaartijd van 48 uur op 4°C vermeld voor stoelgang waarbij een parasitaire analyse is aangevraagd. Tijdens het weekeinde wordt deze termijn soms overschreden. Misschien is het gebruik van preservatieven daarom geïndiceerd. Een idee voor een onderwerp van een nieuwe CAT zou eventueel kunnen zijn: 'Het evalueren van een commercieel fixatiesysteem voor het opsporen van parasieten in feces en vergelijking met de frequent gebruikte fixativa'. Hierin zou ook kunnen worden geëvalueerd of er een alternatief is voor de tijdrovende en omslachtige concentratiemethode, zoals die momenteel gebeurt in UZ Gasthuisberg.

#### Opmerking 3:

Het belang van de preanalytische fase bij het opsporen van parasieten werd benadrukt in een vroegere CAT ('Opsporen van parasieten in feces : wat en voor wie?' van Kristien Van Vaerenbergh, 21-01-2004).

Hier werden volgende besluiten getrokken:

#### **Wanneer is parasitologisch onderzoek aangewezen:**

1. bij onderzoek naar aanslepende diarree buiten het ziekenhuis (community-acquired, reizigers, immuungecompromiteerden)
2. niet bij patiënten onder antibiotica, bijgevolg is opsporen van *Clostridium difficile* samen met parasitologisch onderzoek weinig aangewezen
3. niet bij investigatie van diarree bij patiënten langer dan vijf dagen gehospitaliseerd (wel bij verdere investigatie van community-acquired diarree)

Bij een negatief parasitologisch onderzoek kan, gezien de intermitterende aanwezigheid van parasieten in de stoelgang, **best een tweede en derde staal** worden aangevraagd, optimaal geproduceerd met 48 uur tussentijd (zeker afkomstig van verschillende dagen).

**Suggesties voor wijziging van het aanvraagformulier** werden voorgesteld (maar nog niet doorgevoerd):

- a. op aanvraagformulier: parasieten opzoeken in feces (**chronische** diarree)
- b. op aanvraagformulier onder nummer voor aanvraag parasieten: hospitalisatie sedert..., antibioticagebruik sedert...  
Indien vijfdagenregel overschreden, bij gecombineerde aanvraag *Clostridium* en parasieten of bij recent antibioticagebruik: clinicus raadplegen vooraleer parasitologisch onderzoek uit te voeren.

#### **Besluit:**

Het invoeren van de *Giardia*-strip in de routine praktijk lijkt ons geen prioriteit wegens het beperkte aandeel van *Giardia lamblia* infecties in onze ziekenhuispopulatie (laag percentage positieven), de geringe extra opbrengst die het gebruik van deze test met zich mee zou brengen en de onmogelijkheid om het microscopisch onderzoek te laten vallen.

**ADDENDUMS**

---

Addendum 1: Commercieel beschikbare antigeentesten voor het opsporen van parasieten in feces

Addendum 2: Parasitologisch onderzoek in verschillende centra in Vlaanderen (methodiek)

Addendum 3: Analyse van de aanvragen voor het opsporen van parasieten in UZ Gasthuisberg (2004)

Addendum 4: Technische omschrijving en testprocedure *Giardia*-strip (CorisBioconcept)

Addendum 5: Publicaties betreffende antigeentesten voor het opsporen van *Giardia lamblia* (sensitiviteit-specificiteit).

## Addendum 1

Type test	Naam kit	Fabrikant- verdelers	Organisme
EIA	<i>Crypto</i> CELISA	Cellabs	<i>Cryptosporidium</i>
EIA	<i>Giardia</i> CELISA	Cellabs	<i>Giardia</i>
EIA	<i>Entamoeba</i> CELISA	Cellabs	<i>Entamoeba histolytica</i>
EIA	PARA-TECT <i>Cryptosporidium</i> 96	Medical Chemical Corporation	<i>Cryptosporidium</i>
EIA	PARA-TECT Antigeen 96	<i>Giardia</i> Medical Chemical Corporation	<i>Giardia</i>
EIA (rapid)	ProSpecT <i>Crypto</i> Rapid Test Kit	Remel	<i>Cryptosporidium</i>
EIA (rapid)	ProSpecT <i>Giardia</i> Rapid Test Kit	Remel	<i>Giardia</i>
EIA	ProSpecT <i>Crypto</i> Microplate Assay	Remel	<i>Cryptosporidium</i>
EIA	ProSpecT <i>Crypto/Giardia</i> Microplate Assay	Remel	<i>Cryptosporidium/Giardia</i>
EIA	ProSpecT <i>Giardia</i> Microplate Assay	Remel	<i>Giardia</i>
EIA	ProSpecT	Remel	<i>E. histolytica/dispar</i>
EIA	<i>Cryptosporidium</i>	Techlab	<i>Cryptosporidium</i>
EIA	<i>E. histolytica II</i>	Techlab	<i>E. histolytica/dispar</i>
EIA	<i>Giardia II</i>	Techlab	<i>Giardia</i>
EIA	<i>Cryptosporidium</i>	Wampole	<i>Cryptosporidium</i>
EIA	<i>E. histolytica</i>	Wampole	<i>Entamoeba histolytica</i>
EIA	<i>Giardia</i>	Wampole	<i>Giardia</i>
EIA	<i>Giardia lamblia</i> direct detection kit	Trend	<i>Giardia</i>
EIA	<i>Giardia lamblia</i> Direct Detection RS Detection Test System	Trend	<i>Giardia</i>
EIA	<i>Giardia</i> EIA	Antibodies, Inc.	<i>Giardia</i>
Rapid	<i>Crypto</i> -strip	Coris Bioconcept	<i>Cryptosporidium</i>
Rapid	<i>Giardia</i> -strip	Coris Bioconcept	<i>Giardia</i>
Rapid	ColorPac <i>Crypto/Giardia</i> rapid assay	Becton Dickinson	<i>Cryptosporidium/Giardia</i>
Rapid	ImmunoCard STAT <i>Crypto/Giardia</i> rapid assay	Meridian	<i>Cryptosporidium/Giardia</i>
Rapid	Triage micro parasite panel	BioSite	<i>Crypto/Giardia/Entamoeba</i>
IFA	<i>Crypto/Giardia</i> CEL	Cellabs	<i>Cryptosporidium/Giardia</i>
IFA	<i>Crypto</i> CEL	Cellabs	<i>Cryptosporidium</i>
IFA	<i>Giardia</i> CEL	Cellabs	<i>Giardia</i>
DFA	PARA-TECT <i>Cryptosporidium/Giardia</i> DFA 75	Medical Chemical Corporation	<i>Cryptosporidium/Giardia</i>
IF	<i>Crypto/Giardia</i> IF test	Techlab	<i>Cryptosporidium/Giardia</i>
IF	<i>Crypto</i> IF test	Techlab	<i>Cryptosporidium</i>
DFA	Merifluor	Meridian	<i>Cryptosporidium/Giardia</i>

**Addendum 2**

Bijlage: Parasitologisch onderzoek in verschillende centra in Vlaanderen

<b>Plaats</b>	<b>Ziekenhuis</b>	<b>Microscopie</b>	<b>Antigeentesten</b>
<b>Opleidingscentra</b>			
<b>GSO/ASO</b>			
Genk	Ziekenhuis Limburg	Oost- +	ColorPac (BD)
Lier	Laboratorium Cedibel	+	/
Roeselare	Heilig Hartziekenhuis	+	/
Aalst	O.L.Vrouwziekenhuis	+	/
Kortrijk	AZ Groeninge	+	/
Bonheiden	Imelda Ziekenhuis	+	/
Hasselt	VirgaJesse Ziekenhuis	+	<i>Crypto</i> -strip (CorisBioconcept) ProSpecT <i>Giardia</i> Microplate assay (Remel)
Brugge	A.Z. St. Jan	+	<i>Crypto/Giardia</i> CEL (Cellabs)
Eeklo	Heilig Hartkliniek	+	/
<b>Andere centra</b>			
Leuven	MCH	+	/
Tilburg (Axel Jeurissen)		+	/
Breda (Axel Jeurissen)		+	Evaluatie PCR voor screening op <i>Giardia</i> en <i>Entamoeba</i>
Goes (Ann Demeulemeester)		+	Merifluor (Meridian)
Antwerpen	Tropisch instituut		ProSpecT (Remel) <i>Giardia/Crypto/E. histolytica</i>

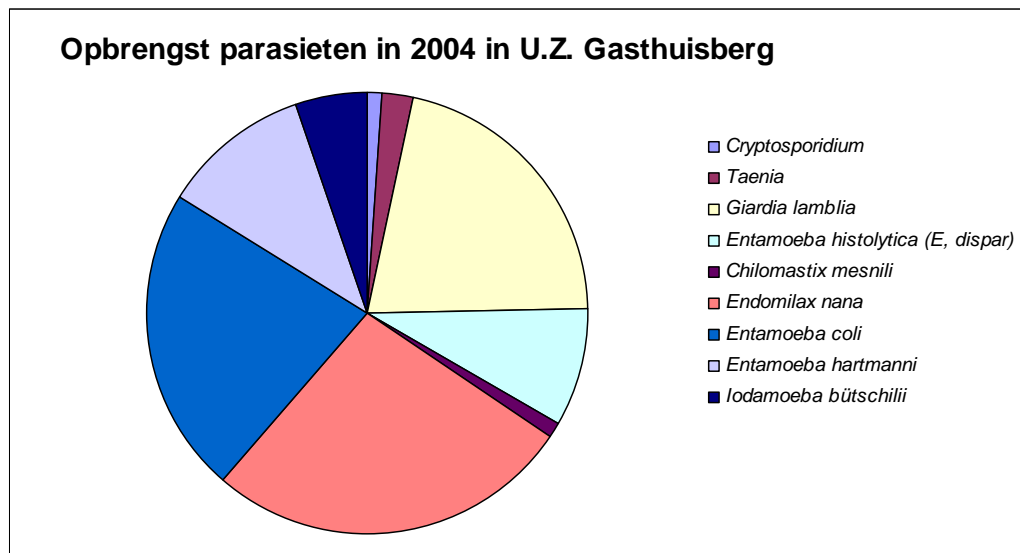


### Addendum 3

Bijlage 1. De analyse 'parasieten in feces' in U.Z. Gasthuisberg (2004)

Beschrijving	Aantal
Analyse 'parasieten in feces'	1715
Positieve analyses	93 (5,7%)
Negatieve analyses	1622
Patiënten met een positief staal	59
Positieve stalen	82
<i>Giardia lamblia</i>	20 (21,5 % van de positieve analyses) (1,2% van de uitgevoerde analyses)

Bijlage 2. Opbrengst 'parasieten in feces' in U.Z. Gasthuisberg (2004)



Bijlage 3. Aantal aanvragen bij positieve patiënten in U.Z. Gasthuisberg (2004)

Aantal aangevraagde stalen per patiënt	Aantal patiënten	Aantal positieve stalen				
		1	2	3	4	5
1	32	32	/	/	/	/
2	15	7	8	/	/	/
3	6	/	1	5	/	/
4	3	/	1	1	1	/
5	3	/	/	1	2	/

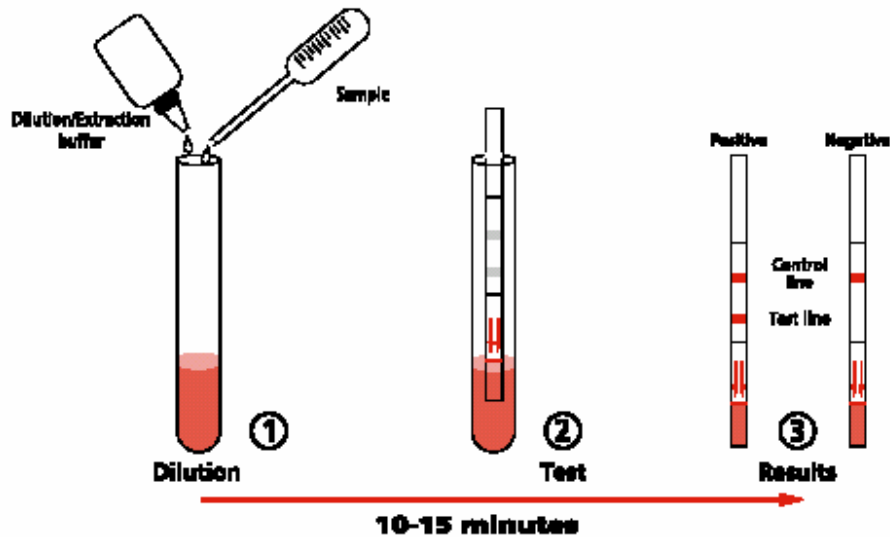
Bijlage 4. Aantal aanvragen bij negatieve patiënten in U.Z. Gasthuisberg (2004)

Aantal aangevraagde stalen per patiënt	Aantal patiënten
1	1247
2	117
3	43
4	3

**Addendum 4**

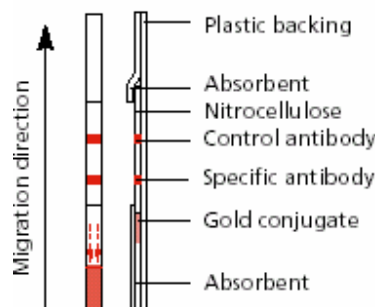
**Procedure *Giardia*-strip:**

**Simple, Sensitive, Economic !**



**Technische omschrijving:**

This test is a single one-step immunochromatographic membrane test using colloidal gold particles and specific monoclonal antibodies. The test's specificity is ensured by a monoclonal antibody specific to the cyst membrane antigens of *Giardia lamblia* that is conjugated to the colloidal gold. This conjugate is dried onto a polyester membrane. When the immunochromatographic strip is dipped into the sample solution, the sample and rehydrated gold conjugate migrate by capillarity, passing the test and control areas, which contain immobilised antibodies. Pink/purple lines develop at sites of the immobilised antibodies if corresponding antigen has been detected.



## Addendum 5

Studie	Testgroep	Aantal stalen (aantal positieve stalen)	Testmethodiek	Type antistof	Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)	Referentiemethode	Evaluatie valspositieven
Addiss et al., 1991	Kinderen uit dagverblijf	609 (119)	ProspecT <i>Giardia</i> Microplate Assay, Remel (EIA)	Polyclonaal	93,9	100,0	Microscopie	Herhalen op zelfde staal; herhalen ander staal zelfde patiënt
Alles et al., 1995	Routinestalen	2696 (G: 119, C: 42)	Merifluor, Meridian (DFA)	Monoclonaal	G: 99,2 C: 93,0	G: 100,0 C: 100,0	Microscopie	Elke discordantie (DFA+, micro-) werd als echt + beschouwd
Aldeen et al., 1995	Symptomatische patiënten	417 (29)	ProspecT <i>Giardia</i> Microplate Assay, Remel (EIA)	Polyclonaal	91,0	98,0	Microscopie	Uitvoeren DFA; herhalen op ander staal zelfde patiënt
Aldeen et al., 1998	Symptomatische patiënten	222 (70)	ProspecT <i>Giardia</i> EZ Microplate Assay, Remel (EIA)	Monoclonaal	95,7	100,0	Microscopie	Uitvoeren DFA
			ProspecT <i>Giardia</i> Rapid Assay, Remel (EIA)	Monoclonaal	90,0	100,0		
			ProspecT <i>Giardia</i> new and improved Microplate Assay, Remel (EIA)	Monoclonaal	100,0	100,0		
			ProspecT <i>Giardia</i> Microplate Assay, Remel (EIA)	Polyclonaal	100,0	100,0		
Calderaro et al., 2000	Symptomatische patiënten	86 (G: 24, C: 2, G & C: 2)	ColorPAC, BD (Immunochromatografie)	Monoclonaal	G: 100,0 C: 100,0	G: 95,1 C: /	Immuno-fluorescentie	/
Chan et al., 2000	/	556 (G: 77, C: 77)	ColorPAC, BD (Immunochromatografie)	Monoclonaal	G: 96,0 C: 100,0	G: 98,5 C: 98,7	Microscopie	Herhalen op ander staal zelfde patiënt; Uitvoeren ProspecT <i>Giardia</i> Microplate Assay, Alexon

G: *Giardia*; C: *Cryptosporidium*; E: *Entamoeba*

Studie	Testgroep	Aantal stalen (aantal positieve stalen)	Testmethodiek	Type antistof	Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)	Referentiemethode	Evaluatie valspositieven
Garcia et al., 2003	Gekende pos. en neg. stalen	401 (170)	ImmunoCard STAT, Meridian (Immunochromatografie)	Monoclonaal	G: 93,5 C: 98,8	G: 100,0 C: 100,0	Microscopie	Uitvoeren Merifluor (Meridian)
Garcia et al., 2000	/	172 (G: 47, C: 41)	ColorPAC, BD (Immunochromatografie)	Monoclonaal	G: 100,0 C: 97,6	G: 100,0 C: 100,0	Microscopie	Uitvoeren Merifluor (Meridian)
			ProspecT <i>Giardia</i> Rapid EIA, Remel (EIA)	Monoclonaal	G: 87,2 C: 92,7	G: 100,0 C: 100,0		
Garcia et al., 2000	/	444 (G: 142, C: 42, G & C: 58)	Triage, BioSite (EIA)	Monoclonaal	G: 95,9 C: 98,3 E: 96,0	G: 97,4 C: 99,7 E: 99,1	Microscopie	Uitvoeren Merifluor (Meridian); ProspecT Microplate Assay, Alexon voor <i>Giardia</i> & <i>Entamoeba</i>
Garcia et al., 1997	/	210 (G: 60, G & C: 40)	ProspecT <i>Giardia</i> EZ Microplate Assay, Remel (EIA)	Monoclonaal	94,0	100,0	Immuno-fluorescentie (Merifluor)	/
Garcia et al., 1992	Gekende pos. en neg. stalen	230 (G: 60, C: 55, G & C: 10)	Merifluor, Meridian (DFA)	Monoclonaal	G & C: 100,0	G & C: 100,0	Microscopie	Herhalen op ander staal zelfde patiënt
Johnston et al., 2003	/	246 (G: 32, C: 37)	ImmunoCard STAT, Meridian (Immunochromatografie)	Monoclonaal	G: 81,3 C: 67,6	G: 99,5 C: 99,0	Immunofluorescentie (Merifluor)	/
			ProspecT <i>Giardia</i> Microplate Assay, Remel (EIA)		90,6	99,5		

G: *Giardia*; C: *Cryptosporidium*; E: *Entamoeba*

Studie	Testgroep	Aantal stalen (aantal positieve stalen)	Testmethodiek	Type antistof	Sensitiviteit (%)	Specificiteit (%)	Referentiemethode	Evaluatie valspositieven
Katanik et al., 2001	Routine- & bewaarde stalen	241 (G: 53, C: 19)	ColorPAC, BD (Immunochromatografie)	Monoclonaal	G: 100,0 C: 100,0	G: 100,0 C: 99,5	/	Staal + indien beide IA + (bij discordantie: microscopie)
			ProspecT <i>Giardia</i> , <i>Cryptosporidium</i> Microplate Assay, Remel (EIA)		G: 100,0 C: 100,0	G: 98,4 C: 98,6		
Maraha et al., 2000	Symptomatische patiënten	168 (56)	ProspecT <i>Giardia</i> Microplate Assay, Remel (EIA)	Monoclonaal	91,0	99,0	Microscopie	Uitvoeren 3 andere EIA (Cellabs., DSL, Melotec)
Pillai et al., 1999	Symptomatische of risicopatiënten	71 (G: 6, E: 41, C: geen)	Triage, BioSite (EIA)	Monoclonaal	G: 83,3 E: 68,3	G: 100,0 E: 100,0	Microscopie ProspecT Assay (Alexon)	/
Rosoff et al., 1989	Routinestalen	325	ProspecT <i>Giardia</i> Test, Remel (EIA)	Polyclonaal	96,0	100,0	Microscopie	Bestuderen familiale en geografische geschiedenis
Scheffer et al., 1994	Routinestalen	223 (18)	ProspecT <i>Giardia</i> Rapid Assay, Remel (EIA)	Monoclonaal	95,0	100,0	Microscopie	Herhaling op zelfde staal; herhalen ander staal zelfde patiënt; parasitaire voorgeschiedenis
Sharp et al., 2001	Routinestalen	523 (G: 9, C: 4, E: 5)	Triage, BioSite (EIA)	Monoclonaal	G: 100,0 C: 100,0 E: 100,0	G: 100,0 C: 100,0 E: 99,8	/	Herhaling Triage; uitvoeren IA spec. voor parasiet die probleem stelt (Alexon)
Zimmerman et al., 1995	Routinestalen	512 (G: 33)	Merifluor, Meridian (DFA)	Monoclonaal	100,0	99,8	Microscopie	/
			ProspecT <i>Giardia</i> Microplate Assay, Alexon (EIA)	Monoclonaal	97,0	99,8		

G: *Giardia*; C: *Cryptosporidium*; E: *Entamoeba*