

VITASSAY

Crypto

Test rápido de detección cualitativa de cryptosporidium en muestras de heces humanas.

IU-7355033 Ed00 Abril 2016



Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.

USO PREVISTO

Vitassay Crypto es un test rápido, inmunocromatográfico, de un solo paso para la detección cualitativa de cryptosporidium en muestras de heces humanas.

Ensayo sencillo, no invasivo y de alta sensibilidad que sirve de ayuda en el diagnóstico de una infección por cryptosporidiosis.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por parásitos intestinales siguen siendo un problema de salud pública global. Se asocian a malnutrición humana. Los parásitos intestinales son organismos que viven en el tracto gastrointestinal de humanos y animales: son una causa común de enfermedad diarreica en humanos, con una alta morbilidad y mortalidad en el mundo, particularmente en países en vías de desarrollo.

La falta de seguridad en el agua de bebida y de la higiene ambiental son causas ampliamente importantes de más casos de enfermedad diarreica en países en vías de desarrollo cada año. Aunque puede haber otras causas de diarrea, el protozoo entérico *Cryptosporidium parvum* ha sido reconocido como importante causa de brotes y diarrea en humanos.

Los síntomas en la cryptosporidiasis humana incluyen diarrea, dolor abdominal, náuseas o vómitos y poca fiebre. Suelen ser auto limitantes, sin embargo, en pacientes con grave inmunodeficiencia en células-T se puede prolongar de 2 o 3 semanas e incluso ser invasiva o poner en riesgo la vida.

La transmisión de *Cryptosporidium* se realiza principalmente por vía feco-oral, además de a través de aguas contaminadas y comida, vía persona a persona y contacto con animales infectados.

PRINCIPIO

Vitassay Crypto es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de cryptosporidium en muestras de heces humanas.

En la zona de la línea de test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a cryptosporidium.

Durante el proceso, la muestra reacciona con anticuerpos anti-crypto, formando conjugados. La mezcla se mueve hacia la parte de arriba de la membrana por acción capilar. En el caso de que se dé un resultado positivo, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado formado y aparecerán una línea **roja**. Aunque la muestra sea positiva o negativa, la mezcla continua moviéndose a través de la membrana y la línea de control siempre aparecerá.

La presencia de una línea **verde** (en la zona de control (C)) indica que el volumen añadido es suficiente, que el flujo ha sido el adecuado y también sirve como control interno de los reactivos.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No utilizar el test si el envase primario se encuentra dañado.
- Las muestras deben considerarse potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Para evitar errores de contaminación, un nuevo test deberá utilizarse para la evaluación de cada muestra. Dispositivos de un solo uso.
- Los tests tras su utilización 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 **Vitassay Crypto**. 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.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El producto debe ser almacenado en el rango de temperatura comprendido entre (2-30°C/35.6-86°F) en su envase original sellado.

Así se garantiza el óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase.

No debe abrirse hasta el momento de su uso.

No congelar.

MATERIALES

MATERIAL SUMINISTRADO	MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO
<ul style="list-style-type: none">• 25 tests/kit• Vitassay Crypto• Instrucciones de uso.• 25 viales con diluyente para dilución de muestra.	<ul style="list-style-type: none">• Recipiente para recogida de muestras.• Guantes desechables.• Cronómetro.

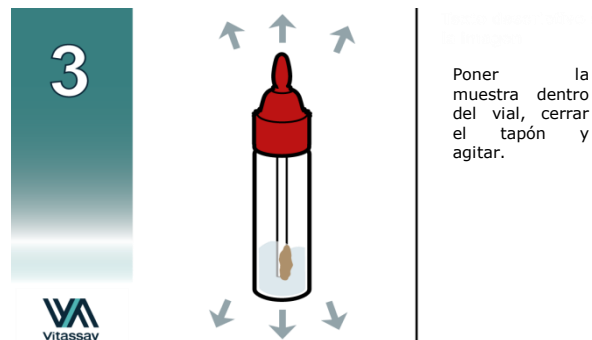
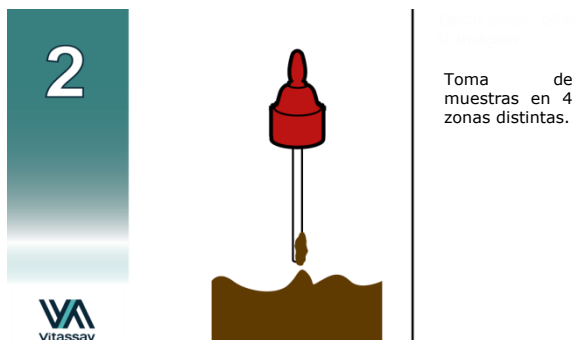
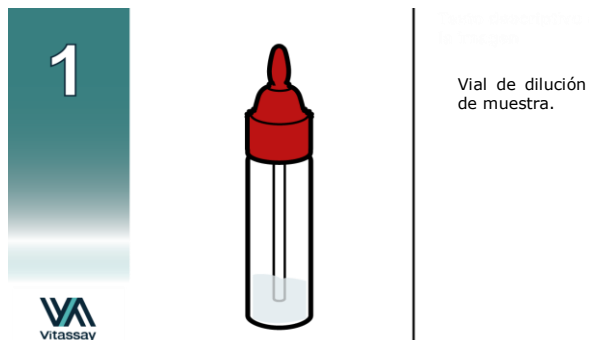
RECOGIDA DE MUESTRAS

La cantidad de heces tomada debe ser suficiente: 1-2g o mL si la muestra es líquida. Las muestras deben ser almacenadas en un envase limpio y seco.

Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-8°C / 35.6-46.4°F) durante 1-2 días antes de su uso. Si queremos conservar la muestra por un periodo prolongado, máximo 1 año, debe congelarse a -20°C (-4°F). La muestra debe ser totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente antes de usarse.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Abrir el vial con diluyente para dilución de muestra (figura 1).
2. Tomar la cantidad de muestra necesaria para la realización del test a partir de las heces recogidas, para ello, introducir el palo de toma de muestra una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra, tomando aprox. 125mg, (figura 2), el palo con la muestra tomada se introduce en el vial para dilución de muestra. Si la muestra es líquida, añadir aprox. 125µL en el vial para dilución de muestra utilizando una micropipeta.
3. Cerrar el vial con la muestra y el diluyente. Agitar vigorosamente para facilitar la dispersión de la muestra (figura 3).

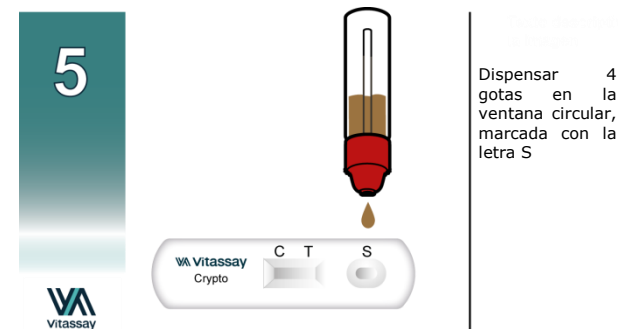
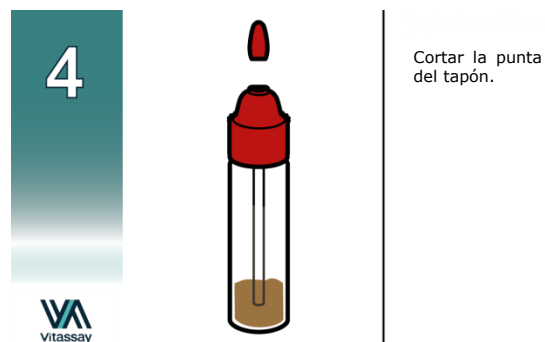


PROCEDIMIENTO

Antes de realizar la prueba los test, muestras de heces, controles y diluyente deben alcanzar temperatura ambiente (15-30°C / 59-86°F). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.

1. Agitar el vial con la muestra para asegurar una buena dilución de la muestra.
2. Sacar **Vitassay Crypto** de su envase antes de utilizarlo.
3. Tomar el vial con diluyente para dilución de muestra, cortar la punta del tapón (figura 4) y dispensar 4 gotas en la ventana de muestra, indicada con la letra S (figura 5).
4. Leer el resultado a los **10 minutos**. No leer resultados transcurridos más de 10 minutos.

Si no se observa el avance de la cromatografía debido a la presencia de partículas sólidas, se debe agitar con el palito la muestra en la ventana. Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

	NEGATIVO	
	Una sola línea verde en la zona de control (C).	No existe presencia de cryptosporidium en la muestra. No hay infección por cryptosporidium.
	Además de la línea verde (línea de control C), aparece una línea roja (línea de test T).	Existe presencia de cryptosporidium. Infección causada por cryptosporidium.
Cualquier otro resultado		Resultado inválido, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test. Nota: procedimiento inadecuado, deterioro de reactivos, o volumen insuficiente de muestra podrían ser la causa del resultado inválido. Si los síntomas o situación persiste, dejar de utilizar el test y contactar con el distribuidor local.

Observaciones: La intensidad de la línea de color rojo en la zona de línea de test (T) variará dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra.

CONTROL DE CALIDAD

Existe un control interno del procedimiento incluido en **Vitassay Crypto**. La línea verde aparece como control interno del proceso (C), comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

- No debe utilizarse **Vitassay Crypto** una vez abierto y transcurridas 2 horas.
- Utilizar únicamente muestras frescas o muestras frescas congeladas sin conservantes ni fijadores.
- Un exceso de muestra puede dar resultados erróneos (aparición de líneas de color pardo). Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- La intensidad de la línea del test puede variar dependiendo de la concentración de antígenos.
- 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.
- No ha sido determinado el uso del test en muestras diferentes a las humanas.
- La calidad de **Vitassay Crypto** depende de la calidad de la muestra, por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras.
- Los resultados positivos determinan la presencia de *Cryptosporidium* en muestras de heces; sin embargo, un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas diagnósticas (métodos bioquímicos o por microscopía) para confirmar el resultado. 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 al valor del límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, una determinación de *Cryptosporidium* debería llevarse a cabo con otra técnica (ej: microscopía).

VALORES ESPERADOS

Los patógenos zoonóticos son responsables de alrededor del 75% de las enfermedades nuevas que afectan a los humanos. *Cryptosporidium* es un parásito protozario distribuido globalmente y que infecta a humanos, animales domésticos y algunos animales salvajes.

Cryptosporidium spp. Están altamente reconocidos como una causa importante de morbilidad y mortalidad en la infancia en países en vías de desarrollo. En estos países donde hay bajo nivel de higiene, escasa limpieza, poca gestión del agua de bebida, y frecuente contacto con animales, el problema de *Cryptosporidiosis* se mantiene como un importante problema de salud.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad y especificidad clínica

Una evaluación, con muestras fecales, se desarrolló utilizando **Vitassay Crypto** y estos resultados fueron confirmados usando una técnica microscópica y PCR (resultados positivos).

		Microscopy technique/PCR		
		Positivo	Negativo	Total
Vitassay Crypto	Positivo	25	0	25
	Negativo	0	229	229
	Total	25	229	254

Vitassay Crypto vs Microscopy technique/PCR			
Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
>99%	>99%	>99%	>99%

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

Reacciones cruzadas

No se detectaron reacciones cruzadas con los siguientes patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces.

<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Giardia lamblia</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	

BIBLIOGRAFÍA

- DR. PARUL PATEL; DR. SACHIN PATEL; DR. NIDHI SOOD; DR. PALAK RAO; DAYA RADADIYA. "A study of the prevalence of *Cryptosporidium Parvum* in stool samples of patients of Tertiary Care Hospital, Ahmedabad". National Journal of Integrated Research in Medicine 2015; Vol. 6(4) July-August, pp. 91-93.
- STEPHEN J. HADFIELD; JUSTIN A. PACHEBAT; MARTIN T. SWAIN; GUY ROBINSON; SIMON JS CAMERON; JENNA ALEXANDER; MATTHEW J. HEGARTY; KRISTIN ELWIN; RACHEL M. CHALMERS. "Generation of whole genome sequences of new *Cryptosporidium parvum* isolates directly from stool samples". BioMed Central Genomics (2015) 16:650.
- TECHALEW SHIMELIS; ENDALE TADESE. "Performance evaluation of point-of-care test for detection of *Cryptosporidium* stool antigen in children and HIV infected adults". Parasites and Vectors 2014, 7:227.

4. MARTIN KVÁC; KAMILA SAKOVÁ; DANA KVETONOVÁ; MARTA KICIA; MARIA WESOLOWSKA; JOHN MCEVOY; BOHUMIL SAK. "Gastroenteritis caused by the *Cryptosporidium* hedgehog genotype in an immunocompetent man". Journal of Clinical Microbiology, January 2014, Volume 52, Number 1, pp. 347-349.

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

IVD	Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Almacenar en lugar seco
	Consultar las instrucciones de uso		Limitación de temperatura
	Fecha de caducidad		Fabricante
LOT	Número de lote		Contiene <n> test
DIL	Diluyente de muestra	REF	Número de referencia



