

VITASSAY

Crypto+Giardia+ Entamoeba

Test rápido de detección cualitativa simultánea de cryptosporidium, giardia, y entamoeba (histolytica o dispar) en muestras de heces humanas

IU-7715037 Ed00



Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*..

USO PREVISTO

Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba es un test rápido, inmunocromatográfico, de un solo paso para la detección cualitativa simultánea de cryptosporidium, giardia y entamoeba (histolytica y dispar) en muestras de heces humanas.

Ensayo sencillo, no invasivo y de alta sensibilidad para realizar un diagnóstico presuntivo de infección causada por cryptosporidium, giardia y/o entamoeba.

INTRODUCCIÓN

Aunque puede haber otras posibles causas de diarrea, los protozoos entéricos *E. histolytica*, *G. Lamblia* and *Cryptosporidium* spp. han sido reconocidos como causas importantes de diarrea entre seres humanos. *E. histolytica* es un parásito patógeno para el cual el humano es el reservorio primario. La presentación clínica puede variar desde portadores asintomáticos a enfermedades gastrointestinales e invasivas. *E. histolytica* es morfológicamente idéntica a las especies no patogénicas de *E. dispar* y *E. moshkovskii*, aunque se han confirmado diferencias genéticas que las separa en especies independientes.

G. lamblia (sinónimo de *G. intestinalis* y *G. duodenalis*) es la infección por protozoos más común del tracto intestinal en el mundo. Algunos países, especialmente en países en desarrollo, muestran una tasa alta de infección de giardiasis. Se cree que la giardiasis sigue siendo un problema importante de salud. La mayoría de las personas infectadas son niños que sufren y experimentan retardo en el crecimiento. La cryptosporidiosis es una causa frecuente de enfermedad diarreica en humanos. La infección se adquiere vía feco-oral, y *C. parvum* ha sido reconocido como la causa de brotes de gastroenteritis producidos por contaminación del agua y contaminación de los alimentos. Los pacientes presentan diarrea autolimitante que puede durar de varias semanas a meses.

La transmisión de parásitos intestinales depende de la presencia de individuos infectados, de la poca higiene y principalmente de factores socio económicos y de comportamiento de la población.

Además, la giardiasis, la cryptosporidiosis y la amebiasis puede dar lugar a diarrea severa, problemas en la función intestinal y malnutrición, condiciones que están frecuentemente asociadas a la pobre función cognitiva y fallo en el retraso del crecimiento en la temprana infancia.

Estos tres parásitos pueden causar brotes por contaminación del agua, y también han sido descritos brotes por contaminación en los alimentos.

PRINCIPIO

Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de cryptosporidium, giardia y entamoeba (histolytica y dispar) en muestras de heces humanas

Tira A: En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a crypto.

Tira B: En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente giardia.

Tira C: En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a entamoeba (histolytica y dispar).

Durante el proceso, la muestra reacciona con los anticuerpos frente a crypto (tira A) y/o giardia (tira B), y/o entamoeba (tira C) formando conjugados. La mezcla se mueve hacia la parte de arriba de la membrana por acción capilar. Si la muestra es crypto positiva, los anticuerpos presentes en la membrana (línea de test) reaccionarán con la mezcla de conjugado y aparecerán una línea coloreada **roja** en la tira A. Si la muestra es giardia positivo, los anticuerpos presentes en la membrana (línea de test) reaccionarán con la mezcla de conjugado y aparecerán una línea coloreada **roja** en la tira B. Si la muestra es entamoeba positivo, los anticuerpos presentes en la membrana (línea de test) reaccionarán con la mezcla de conjugado y aparecerán una línea coloreada **roja** en la tira C. Aunque la muestra sea positiva o negativa, la mezcla continua moviéndose a través de la membrana y la línea **verde** de control siempre aparecerá (para las cuatro tiras).

La presencia de estas líneas **verdes** (en la zona de control (C)) de ambas tiras indica que el volumen añadido es suficiente, que el flujo ha sido el adecuado y también sirve como control interno de los reactivos.

PRECAUCIONES

- El test debe estar en su envase sellado hasta el momento de usarlo.
- 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+Giardia+Entamoeba**.

- No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

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

El producto es estable 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 SUMINISTRADOS
<ul style="list-style-type: none"> • 10 tests/kit • Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba • Instrucciones de uso. • 10 viales con diluyente para dilución de muestra. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Recipiente para recogida de muestras. ▪ Guantes desechables. ▪ Cronómetro.

RECOGIDA DE MUESTRAS

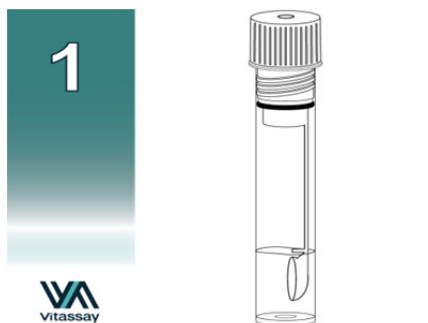
La cantidad de heces tomada debe ser suficiente: 1-2g o mL si la muestra es líquida. Las muestras deben ser almacenadas en un envase limpio y seco.

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. En este caso, la muestra debe ser totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente antes de usarse.

Homogeneizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- 1 Abrir el tapón del vial con diluyente para dilución de muestra (figura 1) y usar la cuchara para tomar suficiente cantidad de muestra. Para muestras sólidas, insertar la cuchara en 4 puntos distintos de la muestra de heces (figura 2), quitar el exceso de muestra con la espátula (figura 3), y meter la muestra en el vial para dilución de muestra (figura 4). Para muestras líquidas tomar una cuchara llena de muestra (figura 3) e introducirla en el vial para dilución de muestra.
2. Cerrar el vial para dilución de muestra y agitar lo para diluir la muestra con el diluyente (figura 4).



1



2



3



4



Vial ara dilución de muestra

Insertar la cuchara en 4 zonas distintas de la muestra.

Eliminar el exceso de muestra con la espátua. Muestras líquidas: cuchara llena.

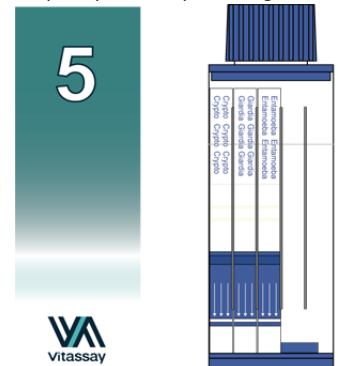
Poner la muestra en el vial, cerrar el tapón y agitar.

PROCEDIMIENTO

Antes de realizar la prueba los test, muestras, 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 dispersión.
2. Sacar **Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba** de su envase antes de utilizarlo (figura 5).
3. Tomar el vial para dilución conteniendo la muestra diluida (figura 6), colocarlo dentro del tubo multiplex (figura 7). Enroscar el tapón del tubo multiplex (figura 8). La parte de abajo del vial para dilución de muestra se romperá y la solución diluyente+muestra alcanza la zona de muestra de las tiras (figura 9)
4. Dejar el tubo multiplex verticalmente en una superficie plana y leer el resultado a los **10 minutos**. No leer el resultado después de 10 minutos.

Si no se observa el avance de la cromatografía debido a la presencia de partículas sólidas (muestra no está homogeneizada), el proceso de migración puede detenerse en una o más tiras. En este caso, golpear la parte final del tubo multiplex en una superficie dura para permitir que la migración comience de nuevo.



5



Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba

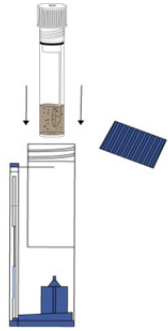


6



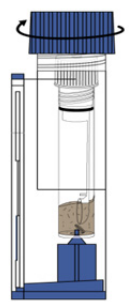
Vial con muestra diluida dentro

7



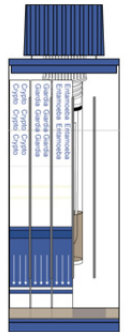
Introduce el vial con la muestra diluida dentro del multiplex.

8



Cierra el tapón y la parte final del vial se romperá

9



Se produce la reacción. Leer el resultado a los 10 minutos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Tira A: crypto, Tira B: giardia, Tira C: entamoeba

	<p>NEGATIVO</p> <p>Solo una línea verde en la zona de control (C) en las cuatro tiras (A, B y C)</p>	<p>No hay presencia de crypto, giardia y entamoeba.</p>
--	---	---

	<p>POSITIVO</p> <p>Además de la línea verde (línea de control C), una línea roja aparece en cada tira, línea de test (T).</p>	<p>Hay presencia de crypto, giardia, y entamoeba.</p>
	<p>NEGATIVO</p> <p>Tira C (entamoeba) → línea verde</p>	<p>Hay presencia de crypto y giardia. Infección causada por crypto y giardia.</p>
	<p>POSITIVO</p> <p>Tira A (crypto) → líneas verde/roja Tira B (giardia) → líneas verde/roja</p>	
	<p>NEGATIVO</p> <p>Tira B (giardia) → línea verde</p>	<p>Hay presencia de crypto y entamoeba,. Infección causada por crypto y entamoeba.</p>
	<p>POSITIVO</p> <p>Tira A (crypto) → líneas verde/roja Tira C (entamoeba) → líneas verde/roja</p>	
	<p>NEGATIVO</p> <p>Tira A (crypto) → línea verde</p>	<p>Hay presencia de giardia y entamoeba. Infección viral causada por giardia y entamoeba.</p>
	<p>POSITIVO</p> <p>Tira B (giardia) → líneas verde/roja Tira C (entamoeba) → líneas verde/roja</p>	
	<p>NEGATIVO</p> <p>Tira B (giardia) → línea verde</p>	<p>Hay presencia de crypto. Infección causada por crypto.</p>
	<p>POSITIVO</p> <p>Tira A (crypto) → líneas verde/roja</p>	

	<p>NEGATIVO</p> <p>Tira A (crypto) → línea verde Strip C (entamoeba) → línea verde</p>	<p>Hay presencia de giardia. Infección causada por giardia.</p>
	<p>POSITIVO</p> <p>Tira B (giardia) → líneas verde/roja</p>	
	<p>NEGATIVO</p> <p>Tira A (crypto) → línea verde Strip B (giardia) → línea verde</p>	<p>Hay presencia de entamoeba. Infección viral causada por entamoeba.</p>
	<p>POSITIVO</p> <p>Tira C (entamoeba) → líneas verde/roja</p>	

Notas: La intensidad de la línea roja de test en la región de la línea de resultados (T) variará dependiendo de la concentración de antígeno en la muestra.

Los resultados positivos detallados en la tabla anterior deberían ser confirmados con procedimientos de diagnóstico adicionales.

Simple o doble infección virica simultanea es más frecuente que infección triple o cuadruple.

Resultados inválidos: Ausencia total de las líneas de control (verdes) indica un resultado inválido, independientemente de la aparición o no de las líneas de tet (rojas). procedimiento inadecuado, deterioro de reactivos, o volumen insuficiente de muestra podrían ser la causa del resultado inválido. Revisar el procedimiento y repetir el ensayo con un nuevo test. Si el problema continua, dejar de utilizar el kit y contactar con su distribuidor.

CONTROL DE CALIDAD

Existe un control interno del procedimiento incluido en **Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba**. Las líneas verdes aparecen en la ventana de resultados como control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITATIONS

- No debe utilizarse **Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba** una vez abierto y transcurridas 2 horas.
- Un exceso de muestra puede dar resultados erróneos (aparición de líneas de color pardo). Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.

- Utilizar únicamente muestras frescas o muestras frescas congeladas sin conservantes ni fijadores.
- Algunas muestras de heces pueden disminuir la intensidad de la línea de control
- 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+Giardia+Entamoeba** 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 y/o guardia y/o entamoeba en muestras fecales. Un resultado positivo debería ser confirmado con otras técnicas de laboratorio adicionales (métodos bioquímicos, PCR, microscopía). La confirmación de una infección debería solamente ser hecha por un médico tras la evaluación de todos los hallazgos clínicos y de laboratorio y deben estar basados en la correlación entre los resultados y más 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 límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, una determinación de cryptosporidium, y/o guardia y/o entamoeba debería llevarse a cabo utilizando otras técnicas (por ejemplo microscopía).

VALORES ESPERADOS

La infección por cryptosporidium spp. se produce mayoritariamente en niños menores de 5 años, mayoritariamente en niños menores de 2 años. En personas inmunodeficientes, especialmente en individuos con VIH, la criptosporidiosis puede estar asociada a diarrea crónica, lo que puede llegar a poner en riesgo su vida.

En países en vías de desarrollo, alrededor de 200 millones de personas tienen síntomas de giardiasis, con unos 500000 nuevos casos detectados cada año. Cryptosporidium cuenta con hasta 20% de casos de diarrea infantil, mientras que la infección invasiva por E. histolytica afecta a 50 millones de personas en el mundo cada año, dando lugar a 40000-100000 muertes anuales.

Entre las principales infecciones por patógenos diarragénicos, Cryptosporidium spp. es el que más muertes produce entre niños de menos de 5 años.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad y especificidad clínica- Crypto

Se llevaron a cabo varias evaluaciones, con muestras de heces, con **Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba** y estos resultados fueron comparados con examen microscópico y PCR.

Los resultados se muestran a continuación:

		Examen microscópico/PCR		
		Positivo	Negativo	Total
Vitassay Crypto+Giardia+ Entamoeba	Positivo	25	0	25
	Negativo	0	229	229
	Total	25	229	254
Cryptosporidium				

Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba (Cryptosporidium) vs Examen microscópico/PCR			
Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
>99%	>99%	>99%	>99%

Sensibilidad y especificidad clínica- Giardia

Se llevaron a cabo varias evaluaciones, con muestras de heces, con **Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba** y estos resultados fueron comparados con examen microscópico y PCR.

		Examen microscópico/PCR		
		Positivo	Negativo	Total
Vitassay Crypto+Giardia +Entamoeba	Positivo	61	0	61
	Negativo	2	191	193
	Total	63	191	254
Giardia				

Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba (Giardia) vs Examen microscópico/PCR			
Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
97%	>99%	>99%	99%

Sensibilidad y especificidad clínica- Entamoeba

Se llevaron a cabo varias evaluaciones, con muestras de heces, con **Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba** y por otro test rápido comercializado (RIDA®QUICK Entamoeba, R-Biopharm AG).

		RIDA®QUICK Entamoeba		
		Positivo	Negativo	Total
Vitassay Crypto+Giardia +Entamoeba	Positivo	5	0	5
	Negativo	0	20	20
	Total	5	20	25
Entamoeba				

Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba (Entamoeba) vs RIDA®QUICK Entamoeba			
Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
>99%	>99%	>99%	>99%

Los resultados mostraron que **Vitassay Crypto+Giardia+Entamoeba** presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar cryptosporidium, giardia y entamoeba (hitolytica o dispar).

Reacciones cruzadas

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

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

BIBLIOGRAFÍA

1. TAHMINA AHMED; HAMIDA KHANUM; MUHAMMED SALAH UDDIN; PRIYANKA BARUA; TUHINUR ARJU; MAMUN KABIR; RASHIDUL HAQUE. "Entamoeba Histolytica, Giardia Lamblia and Cryptosporidium spp. infection in children in an urban slum area of Bangladesh". Bioresearch Communications, Vol. 02, issue 01, January 2016, pp. 175-181.
2. MARIA J. FLECHA; CYNTHIA M. BENAVIDES; GABRIEL TISSIANO; ABRAHAM TESFAMARIAM; JUAN CUADROS; AIDA DE LUCIO; BEGOÑA BAILO; LOURDES CANO; ISABEL FUENTES; DAVID CARMENA. "Detection and molecular characterization of Giardia duodenalis, Cryptosporidium spp. and Entamoeba spp. among patients with gastrointestinal symptoms in Gambo Hospital, Oromia region, southern Ethiopia". Tropical Medicine and International Health, vol. 20, nº 9, September 2015, pp. 1213-1222.
3. MARIT G. TELLEVIK; SABRINA J. MOYO; BJORN BLOMBERG; TORUNN HJOLLO, SAMUEL y. MASELLE; NINA LANGELAND; KURT HANEVIK. "Prevalence of Cryptosporidium parvum/hominis, Entamoeba histolytica and Giardia lamblia among Young Children with and without Diarrhea in Dar es Salaam, Tanzania". PLoS Negl Trop Dis 9(10): e0004125, October 2015.

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



