

Crypto-Strip



www.corisbio.com

IFU-5705/ES/02

Fabricante:

Coris BioConcept
Science Park CREALYS
Rue Jean Sonet 4A
B – 5032 GEMBLoux
BELGIUM
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com

Producido en BÉLGICA

Test de diagnóstico rápido *in vitro* para detectar oocistos de *Cryptosporidium parvum* en las materias fecales

PARA USO *IN VITRO*

SOLO PARA USO PROFESIONAL

Referencia: C-1005, 25 tests por estuche,

C-1505, 10 tests individuales por estuche, materiales de muestra necesarios suministrados

ES

I. INTRODUCCIÓN

La cryptosporidiosis es una de las principales causas de diarrea persistente en los países desarrollados. Se debe a la presencia de oocistos de *Cryptosporidium parvum* en el tracto gastrointestinal. Se trata de un parásito reconocido como muy patógeno y cuya fase infecciosa se transmite por contacto oral o fecal. Es también un patógeno oportunista que se encuentra en personas inmunodeprimidas.

Los síntomas observados son diarrea, espasmos de estómago, pérdida de peso, náuseas y fiebre. En los países industrializados, del 2 al 2,5 % de las personas hospitalizadas y que padecen diarrea, eliminan oocistos. En los pacientes afectados por el SIDA, el 10 % de los individuos padecen cryptosporidiosis crónica y estas cifras pueden alcanzar el 40 % en algunos países en vías de desarrollo.

El diagnóstico de *C. parvum* se realiza bien por coloración de Ziehl-Neelsen, bien por inmunofluorescencia en muestras no concentradas extendidas en el portamuestras. Existen varios ELISA para detectar específicamente antígenos de oocistos. Pueden utilizarse nuevos métodos de biología molecular, del tipo PCR, para detectar estos parásitos en el agua de distribución o en muestras de portadores asintomáticos. Todos estos métodos son muy sensibles, pero deben ser realizados por personas experimentadas.

Coris BioConcept ha desarrollado un test inmunocromatográfico que permite detectar oocistos de *Cryptosporidium parvum* en muestras no concentradas en 15 minutos.

II. PRINCIPIO DEL TEST

El test está listo para ser utilizado y se basa en el uso de un sistema homogéneo inmunocromatográfico a base de partículas de oro. La muestra fecal debe diluirse en el tampón de dilución previsto. Una membrana de nitrocelulosa ha sido sensibilizada con anticuerpos dirigidos contra los oocistos del *Cryptosporidium parvum*. La especificidad se debe a un anticuerpo monoclonal conjugado con partículas de oro y específico de los antígenos de membranas de los oocistos de *Cryptosporidium parvum*. Este conjugado se insolubiliza en una membrana de poliéster.

Cuando se mete la varilla en la fase líquida de la suspensión de materias fecales, el conjugado solubilizado migra por capilaridad con la muestra y el conjunto se encuentra con el anticuerpo monoclonal anti-*Cryptosporidium* adsorbido en la nitrocelulosa. Si hay oocistos de *Cryptosporidium parvum* en la muestra, el complejo conjugado-oocistos se fija al nivel del reactivo anti-*Cryptosporidium*. El resultado puede verse a los 15 minutos cuando aparece una raya roja oscura en la varilla. La migración continua y la solución se encuentra con un segundo reactivo (un anti-IgG de ratón) que fija el exceso de conjugado, generando otra raya roja oscura.

III. REAGENTIA EN MATERIAAL

1. Varillas Crypto-Strip (10 o 25)

Estas varillas están metidas en un frasco o en un sobrecito con desecante.

2. Instrucciones de uso (1)

3. Tampón de dilución HC (15 mL)

Solución salina tamponada a un pH de 7,5 que contiene Tris, EDTA, NaN₃ (<0,1%), un detergente y proteínas de bloqueo.

4. Materiales requeridos (suministrados con C-1505)

- Tubos de ensayo de 3 mL o 5 mL;
- Material de toma de muestras;
- Gradilla.

Materiales que deben solicitarse por separado:

- Control negativo (Ref.: CTR-1000)

IV. PRECAUCIONES PARTICULARES

- Todas las operaciones vinculadas con el uso de la prueba deben realizarse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio (BPL).
- Todos los reactivos son sólo para uso en el diagnóstico *in vitro*.
- Evite tocar con los dedos la nitrocelulosa.
- Al manipular las pruebas, utilice guantes.
- No utilice nunca los reactivos de otro kit.
- Este se debe volver a sellar tan pronto como se haya retirado la cantidad de tiras necesarias para la operación, ya que las tiras son sensibles a la humedad. Asegúrese de que la bolsa de desecante está presente.
- Si las tiras se encuentran en sobrecitos individuales, ábralos con cuidado para no dañar la tira.
- Las líneas verdes indican los lugares de adsorción de los inmunoreactivos. El color verde desaparece durante la prueba.
- La calidad de los reactivos no se puede garantizar tras el vencimiento del período de caducidad o si los reactivos no se conservan en las condiciones requeridas, como se indica en el folleto.

Para evitar diluir el conjugado de oro coloidal en la solución, procure no sumergir la tira por encima de la línea indicada bajo las flechas impresas en el adhesivo.

V. ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

- Deseche los guantes, hisopos, tubos de ensayo y accesorios utilizados de acuerdo con las BPL.
- Cada usuario es responsable de la gestión de los residuos producidos y debe asegurarse de que se eliminan de acuerdo con la legislación vigente

VI. CONSERVACIÓN

- Un sobre sin abrir se puede mantener entre 4 y 30°C y utilizarlo durante el período de validez indicado en el envase. Una vez abierto el sobre, realice la prueba inmediatamente.
- Evite congelar los accesorios y el tampón.

VII. MANIPULACIÓN Y RECOGIDA DE MUESTRAS

Las muestras de heces deben procesarse lo más rápidamente posible después de recogerlas. Si es necesario, se pueden almacenar entre 2 y 8°C durante una semana o a -20°C durante períodos de tiempo más prolongados.

Asegúrese de que las muestras no se tratan con soluciones que contengan formaldehído o sus derivados.

VIII. PROCEDIMIENTO

PREPARATIVOS PARA LA PRUEBA:

Deje que los componentes del kit, dentro del envase sin abrir, y las muestras alcancen la temperatura ambiente (de 15 a 30°C) antes de realizar una prueba.

Una vez abierta, realice la prueba inmediatamente. Indique el nombre del paciente y el número de muestra en el tubo. Coloque los tubos de ensayo marcados en una gradilla.

PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

1. Añada 14 gotas de la solución del tampón de dilución en un tubo.
2. Sumerja un asa que contenga la muestra de heces en el tubo. **La relación de dilución debe ser del 4 % de p/v aproximadamente.** Para las muestras líquidas, coja 2 asas de 10 µL; para las muestras sólidas, coja 1 asa.
3. Deseche el asa de muestreo.
4. Agite el preparado para homogeneizarlo. Toda la muestra de heces debe diluirse en la solución.
5. Sumerja la tira sensible en la dirección indicada por la flecha roja.

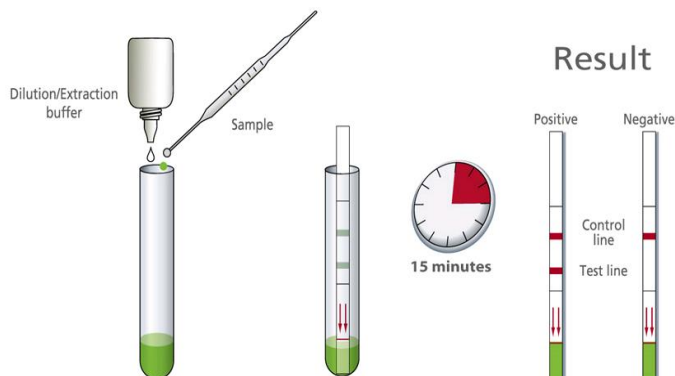
Deje que reaccione durante 15 minutos. Los resultados positivos se pueden comunicar en el momento en que resulten visibles las líneas de prueba y control.

No tenga en cuenta la aparición de nuevas líneas una vez sobrepasado el tiempo de reacción.

Los resultados se deben leer en tiras todavía húmedas.

IX. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados deben interpretarse de la manera siguiente:



Resultado negativo de la prueba: aparece una línea roja purpúrea en la posición de la línea de control (C) (línea superior). No aparece ninguna otra banda.

Resultado positivo de la prueba: además de una banda roja purpúrea en la línea de control (C), aparece una banda roja purpúrea visible en la posición de la línea de prueba (T). La intensidad de la línea de prueba puede variar en función de

la cantidad de antígenos encontrados en la muestra. Cualquier línea (T) rojiza purpúrea, incluso débil, debe considerarse como un resultado positivo.

Resultado no válido de la prueba: La ausencia de una línea de control indica un fallo en el procedimiento de la prueba. Repita las pruebas no válidas con un nuevo dispositivo de prueba.

Nota: durante el proceso de secado, puede aparecer una sombra muy ligera en la posición de la línea de prueba. No debe considerarse como un resultado positivo.

X. CONTROL DE CALIDAD

De acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio, se recomienda comprobar periódicamente el rendimiento de las pruebas en función de los requisitos del laboratorio. Moje la tira en 500 µL de control preparado (consulte las instrucciones de uso de CTR-1000).

XI. LEISTUNGSDATEN

A. Limite de detección:

El límite de detección del *Cryptosporidium parvum* se alcanza cuando una materia fecal positiva en *Cryptosporidium parvum* contiene entre 50 y 100 oocistos en 100 µL.

B. Sensibilidad – Especificidad (Correlación):

La sensibilidad y la especificidad del estuche Crypto-Strip han sido probadas en 100 muestras de heces, comparando los resultados obtenidos con el estuche Crypto-Strip y los obtenidos con un kit enzimático. Se obtuvieron los resultados siguientes:

| Immuno enzymatic Test | Positiva | Negativa | Total |
|-------------------------|-----------|-----------|------------|
| Coris BioConcept | | | |
| Positiva | 45 | 0 | 45 |
| Negativa | 2 | 53 | 55 |
| Total | 47 | 53 | 100 |

95 % Intervalo de confianza¹

| | | |
|----------------------------|---------------|-----------------|
| Sensibilidad: | 95.7 % | (84.3 - 99.3 %) |
| Especificidad: | 100 % | (91.6 - 100 %) |
| Valor predictivo positivo: | 100 % | (90.2 - 100 %) |
| Valor predictivo negativo: | 96.4 % | (86.4 - 99.4 %) |
| Fiabilidad: | 98 % (98/100) | |

C. Precisión

Para verificar la precisión dentro de un mismo lote, se procesaron 15 veces las mismas muestras positivas y una solución de tampón de kits del mismo lote de producción, bajo las mismas condiciones experimentales. Todos los resultados observados se confirmaron según lo previsto.

Para verificar la precisión entre los lotes, se procesaron algunas muestras (positivas y de tampón) en kits de tres lotes de producción diferentes. Todos los resultados se confirmaron según lo previsto.

D. Interferencia

Se analizó la reactividad cruzada de muestras positivas para los patógenos siguientes y se demostró que era negativa: *Acinetobacter Iwoffii*, Adenovirus group, *Aeromonas hydrophila*, *Brucella abortus*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, Coronavirus, *Enrrobacter cloacae*, several *E. coli* strains, *Escherichia hermannii*, *Giardia lamblia*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, Rotavirus, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Yersinia enterocolitica* (1, 3, 9).

Se han realizado pruebas de reactividad cruzada a *Staphylococcus aureus* y han sido positivas a una concentración elevada de bacterias.

XII. LÍMITES DEL KIT

Esta es una prueba cualitativa y no puede predecir la cantidad de antígenos presentes en la muestra. Debe tenerse en cuenta la presentación clínica y los resultados de otras pruebas para establecer un diagnóstico.

Una prueba positiva no descarta la posibilidad de que pueda haber otros patógenos presentes.

La prueba del kit es una prueba de detección en fase aguda. Las muestras recogidas tras esta fase pueden contener títulos de antígenos inferiores al umbral de sensibilidad del reactivo. Si una muestra presenta un resultado negativo a pesar de los síntomas observados, deberán realizarse otras pruebas relevantes para comprobar la muestra.

XIII. PROBLEMAS TÉCNICOS / RECLAMACIONES








Si surge un problema técnico o si los resultados no coinciden con los indicados en el prospecto de este envase:

1. Registre el número de lote del kit correspondiente
2. Si es posible, conserve la muestra problemática en el congelador mientras dure la gestión de la reclamación
3. Póngase en contacto con Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) o con su distribuidor local

XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A. Depierreux Ch., Pé E. and Leclipteux Th. Comparison of an immunochromatographic test with ELISA to detect *Cryptosporidium parvum* in stool specimens. Poster presented at the Seventh Conference of the Federation of Infection Societies, November 2000: Manchester, United Kingdom
- B. Belhadj S, Kallel K, Boussen N, Ghobantini A, Bejaoui M, Ben Salem N, Zribi A, Ben Chaabane T, Chaker E. Role of cryptosporidia and microsporidia in diarrhea in immunocompromised patients. Tunis Med 1999 Dec; 77(12):638-43
- C. Robert, A. Ginter, H. Antoine, A. Collard, P. Coppe. Diagnosis of Bovine Cryptosporidiosis by an Enzyme-linked Immunosorbent Assay. Veterinary Parasitology, 37(1990):1-8
- D. Deng MQ, Cliver DO. Cryptosporidium parvum studies with dairy products. Int J Food Microbiol 1999 Feb 2;46(2):113-21
- E. Quiroz ES, Bern C, MacArthur JR, Xiao L, Fletcher M, Arrowood MJ, Shay DK, Levy, ME, Glass RI, Lal A. An outbreak of cryptosporidiosis linked to a foodhandler. J Infect Dis 2000 Feb;181(2):695-700
- F. R. Verdon, D. Bellahsen, E. René. La Cryptosporidiose. Gastroenterol Clin Biol, 1992, 16, 351-358
- G. Comparison of Conventional Staining Methods and Monoclonal Antibody-based Methods for *Cryptosporidium* Oocyst Detection. J. Clin. Microbiol 1989; 7:1490-1495

Última actualización: MARZO 2014

| | | | |
|---|------------------------------------|---|------------------------|
| REF | Catalogue number |  | Manufactured by |
| IVD | In vitro diagnostic medical device |  | Temperature limitation |
|  | Contains sufficient for <n> tests | DIL SPE | Diluent specimen |
|  | Consult instructions for use |  | Do not reuse |
|  | Keep dry |  | Use by |
| DIL AS | Diluent assay | CONT NaN ₃ | Contains Sodium azide |

¹ Newcombe, Robert G. "Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods," *Statistics in Medicine*, 17, 857-872 (1998).