

Réservé à un usage professionnel de diagnostic *in vitro*.

UTILISATION PRÉVUE

Vitassay Crypto est un test immunochromatographique rapide en une étape pour la détection qualitative de *Cryptosporidium* dans les échantillons de selles humaines.

C'est un test de dépistage simple, non invasif et très sensible permettant d'établir un diagnostic présomptif d'une éventuelle cryptosporidiose.

INTRODUCTION

Les infections parasitaires intestinales demeurent un problème de santé publique majeur à l'échelle mondiale. Elles ont été associées à la malnutrition humaine. Les parasites intestinaux sont des organismes qui résident dans le tractus gastro-intestinal des humains et des animaux ; ils sont la cause commune des maladies diarrhéiques humaines dans le monde entier, entraînant une morbidité et une mortalité significatives dans le monde, en particulier dans les pays en développement.

L'insuffisance d'eau potable et d'assainissement de l'environnement est en grande partie responsable de l'augmentation annuelle du nombre de cas de maladies diarrhéiques dans de nombreux pays en développement. Bien qu'il puisse y avoir de nombreuses autres causes de diarrhée, les protozoaires entériques *Cryptosporidium parvum* ont été reconnus comme des causes importantes de diarrhées sporadiques ou liées à des épidémies chez l'homme.

Les symptômes de la cryptosporidiose humaine comprennent des diarrhées, des douleurs abdominales, des nausées ou des vomissements et une fièvre légère. Ils sont généralement spontanément résolutifs, même après 2 ou 3 semaines, mais peuvent être prolongés ou invasifs représentant un danger vital chez les patients souffrant d'un déficit immunitaire sévère des lymphocytes T.

La transmission du *Cryptosporidium* s'effectue principalement par voie fécale-orale, ainsi que par l'eau et les aliments contaminés, la transmission interhumaine et le contact avec des animaux infectés.

PRINCIPE

Vitassay Crypto est un test immunochromatographique qualitatif pour la détection de *Cryptosporidium* dans les échantillons de selles humaines.

La zone réactive, ligne de test de la membrane de nitrocellulose, est pré-revêtue d'anticorps monoclonaux contre *Cryptosporidium*.

Au cours du processus, l'échantillon interagit avec les anticorps contre *Cryptosporidium*, entraînant la formation de conjugués. Le mélange migre vers le haut de la membrane par capillarité. Si l'échantillon est positif, les anticorps présents sur la membrane (ligne de test) capturent le complexe conjugué et une ligne **rouge** est visible. Que l'échantillon soit positif ou négatif, le mélange continue de migrer sur la membrane et la ligne de contrôle **verte** apparaît toujours.

La présence de cette ligne **verte** (dans la zone de contrôle (C)) indique que le volume ajouté est suffisant, que le débit est correct et qu'il sert de contrôle interne pour les réactifs.

PRÉCAUTIONS

- Usage professionnel *in vitro* uniquement.
- Ne pas utiliser après la date de péremption.

- Lire attentivement la notice d'utilisation avant d'utiliser le test.
- Ne pas utiliser le kit si l'étiquette scellant le carton extérieur est déchirée ou si les sacs sont ouverts ou endommagés à la réception.
- Ne pas utiliser le test si le dessiccant est manquant ou cassé à l'intérieur de la pochette en aluminium.
- Ne pas réutiliser. Il s'agit d'un dispositif à usage unique.
- Les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux et doivent être manipulés de la même manière qu'un agent infectieux, conformément aux réglementations locales/nationales. Un nouveau test doit être utilisé pour chaque échantillon afin d'éviter les erreurs de contamination.
- Le matériel exposé aux échantillons doit également être considéré comme potentiellement dangereux et doit être manipulé de la même manière qu'un agent infectieux, conformément aux réglementations locales/nationales.
- Les tests et le matériel utilisé doivent être jetés dans un conteneur approprié de type « risque biologique » après les tests.
- Les réactifs contiennent des conservateurs. Tout contact avec la peau ou les muqueuses doit être évité. Consulter les fiches de données de sécurité, disponibles sur demande.
- Les composants fournis avec le kit sont approuvés pour une utilisation avec **Vitassay Crypto**. Ils ne doivent pas être utilisés avec des composants d'autres kits disponibles dans le commerce ou des composants d'autres lots.
- Respecter les bonnes pratiques de laboratoire. Ces pratiques doivent inclure, sans s'y limiter, un équipement de protection individuelle (EPI), tel qu'une blouse de laboratoire, un masque chirurgical ou approprié ou un écran facial, des gants jetables et une protection oculaire. Prendre les précautions nécessaires lors du prélèvement, du transport, du stockage, de la manipulation et de l'élimination des échantillons. Chaque échantillon doit être identifié de manière correcte et précise afin de garantir sa traçabilité.
- En cas d'écoulement, nettoyer soigneusement avec un désinfectant approprié.
- Ne pas manger, boire ou fumer sur le lieu de travail.
- La présence de lignes jaunes dans la zone de résultats (zone de la ligne de contrôle et zone de la ligne de test), avant l'utilisation du test, est tout à fait normale et ne signifie pas un dysfonctionnement du test.
- L'interprétation des résultats se fait visuellement à travers l'apparition de lignes colorées. L'interprétation des résultats devrait être réalisée par un utilisateur professionnel n'ayant pas de problèmes de visualisation et d'interprétation des couleurs.
- Un certificat d'analyse peut être fourni sur demande (non inclus).

STOCKAGE ET STABILITÉ

La température de stockage des kits doit être comprise entre 2 et 30 °C.

Ne pas congeler.

Dans ces conditions, ils peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du kit.

Tous les composants du kit sont à usage unique et doivent rester dans leur emballage d'origine jusqu'à leur utilisation. Le test doit rester dans le sachet scellé jusqu'à son utilisation.

MATÉRIELS

VITASSAY

Crypto

Test rapide pour la détection qualitative de
Cryptosporidium dans les échantillons de selles humaines.

IUE-7355033-67 Ed01 mai 2024



MATÉRIEL FOURNI	MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI
<ul style="list-style-type: none"> 25 tests/kit Vitassay Crypto. Notice d'utilisation 25 Flacons contenant le diluant pour la dilution de l'échantillon. 1 écouvillon de contrôle positif Vitassay Crypto. 1 écouvillon de contrôle négatif. 	<ul style="list-style-type: none"> EPI, tels que des gants jetables Réceptacle de collecte d'échantillons Chronomètre Micropipette (en cas de selles liquides)

PRÉLÈVEMENT DE L'ÉCHANTILLON

Collecter une quantité suffisante de matières fécales : 1 à 2g ou mL pour les échantillons liquides. Les échantillons de selles doivent être recueillis dans des récipients propres et secs.

Les échantillons peuvent être conservés au réfrigérateur (Entre 2 et 8°C) pendant 1 à 2 jours avant le test. Pour une conservation prolongée, jusqu'à un an maximum, l'échantillon doit être stocké à -20°C. Il doit être ramené à température ambiante avant le test.

Homogénéiser l'échantillon de selles de manière aussi complète que possible avant la préparation.

PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

- Retirer le bouchon du flacon contenant le diluant de l'échantillon (figure 1).
- Utiliser la tige pour collecter une quantité suffisante d'échantillon. Pour les selles solides, prélever environ 125 mg de l'échantillon en insérant la tige dans 4 zones distinctes de l'échantillon de selles (figure 2), et l'ajouter dans le flacon contenant le diluant. Pour les selles liquides, prélever 125µL de l'échantillon à l'aide d'une micropipette et les transférer dans le flacon contenant le diluant.
- Fermer le flacon contenant le diluant et l'échantillon de selles. Agiter vigoureusement le flacon pour assurer une bonne dispersion de l'échantillon (figure 3).

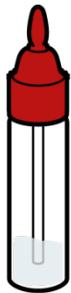


Figure 1: Préparation de l'échantillon

Flacon contenant le diluant de l'échantillon.

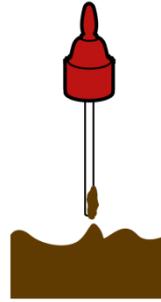


Figure 2: Préparation de l'échantillon

Insérer la tige dans 4 zones différentes des selles.

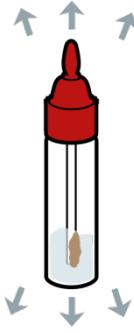
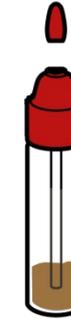


Figure 3: Préparation de l'échantillon

Placer l'échantillon dans le flacon, fermer puis agiter.



Couper l'extrémité du bouchon.

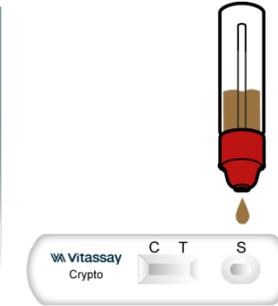


Figure 5: Préparation de l'échantillon

Verser 3 gouttes dans la zone circulaire marquée de la lettre S.

PROCÉDURE

Laisser le test, l'échantillon de selles, les contrôles et les diluants revenir à température ambiante (Entre 15 et 30 °C) avant d'effectuer le test. Ne pas ouvrir les sachets avant la réalisation du test.

- Agiter le flacon contenant l'échantillon dilué pour obtenir une bonne dilution de l'échantillon.
- Retirer le **Vitassay Crypto** de son sachet scellé juste avant de l'utiliser.
- Prendre le flacon contenant l'échantillon dilué, couper l'extrémité du bouchon (figure 4) et verser 3 gouttes dans la zone circulaire marquée de la lettre S (figure 5).
- Lire les résultats après **10 minutes**. Ne pas lire les résultats après 10 minutes.

Si le test ne fonctionne pas en raison de la présence de particules solides, remuer l'échantillon, dans le puit d'échantillon, à l'aide de la tige. Si cela ne fonctionne pas, distribuer une goutte de diluant jusqu'à ce que le liquide s'écoule dans la zone de réaction.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

	NÉGATIF	
	Une seule ligne verte dans la zone de contrôle (C).	Absence de <i>Cryptosporidium</i> . Aucune infection causée par <i>Cryptosporidium</i> .
	En plus de la ligne verte (ligne de contrôle C), une ligne rouge apparaît (ligne de test T).	Présence de <i>Cryptosporidium</i> . Possibilité d'infection causée par <i>Cryptosporidium</i> .

TOUT AUTRE RÉSULTAT	<p>Résultat non valide, il est recommandé de refaire le test en utilisant l'échantillon avec un autre test.</p> <p>Remarque : des techniques de procédure incorrectes, la détérioration des réactifs ou un volume d'échantillon insuffisant sont les principales raisons de l'absence de la ligne de contrôle. Si les symptômes ou la situation persistent, cesser d'utiliser le kit de test et contacter votre distributeur local.</p>
----------------------------	--

Remarques : L'intensité de la ligne de test **rouge** dans la zone de résultat (T) varie en fonction de la concentration d'antigènes dans l'échantillon.

LE CONTRÔLE QUALITÉ

Le contrôle interne est inclus dans **Vitassay Crypto**. La ligne **verte** qui apparaît dans la zone des résultats est un contrôle interne indiquant que le volume de l'échantillon est suffisant et que la procédure a été correctement suivie.

LIMITES

- Un excès d'échantillon de selles peut entraîner des résultats erronés (apparition de bandes brunes). Diluer l'échantillon avec le diluant et recommencer le test.
- L'intensité de la ligne de test peut varier en fonction de la concentration des antigènes.
- Après une semaine d'infection, le nombre de parasites dans les selles diminue, ce qui rend l'échantillon moins réactif. Les échantillons de selles doivent être prélevés dans la semaine qui suit l'apparition des symptômes.
- L'utilisation d'échantillons autres que ceux provenant d'humains n'a pas été validée.
- La qualité du test **Vitassay Crypto** dépend de la qualité de l'échantillon. Des échantillons de selles appropriés doivent être obtenus.
- Les résultats positifs indiquent la présence de *Cryptosporidium* dans les échantillons fécaux. Un résultat positif doit être confirmé par des techniques de laboratoire supplémentaires. Une infection confirmée ne doit être établie par un médecin qu'après évaluation de tous les résultats cliniques et de laboratoire et doit être basée sur la corrélation des résultats avec d'autres observations cliniques.
- Un résultat négatif ne doit pas être considéré comme concluant, il se peut que la concentration d'antigènes dans l'échantillon de selles soit inférieure à la limite de détection. Si les symptômes ou la situation perdurent, un test de détection du *Cryptosporidium* doit être réalisé en utilisant d'autres techniques complémentaires.
- Les échantillons de **selles sanglantes** et/ou **muqueuses** peuvent entraîner des réactions non spécifiques dans le test. Ces échantillons positifs doivent être confirmés par d'autres techniques de diagnostic.

VALEURS ATTENDUES

Les agents pathogènes zoonotiques sont à l'origine d'environ 75 % de nouvelles maladies affectant l'homme. Le *cryptosporidium* est un parasite protozoaire répandu dans le monde entier qui infecte les humains, les animaux domestiques et de nombreux vertébrés sauvages.

Cryptosporidium spp. est également de plus en plus reconnu comme une cause importante de morbidité et de mortalité infantiles dans les pays en développement.

Dans les pays en développement où le niveau d'hygiène est faible, l'assainissement est médiocre, la gestion de l'eau n'est pas bonne les contacts avec les animaux sont fréquents, la cryptosporidiose demeure un problème de santé majeur.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Sensibilité et spécificité cliniques

Une évaluation a été réalisée à partir d'échantillons de matières fécales en utilisant le test **Vitassay Crypto** dont les résultats ont été comparés à un critère d'évaluation. Critères d'évaluation : deux tests rapides ont été évalués (Vitassay Crypto et un autre test de la concurrence), les résultats divergents ont été confirmés par une technique qPCR (Vitassay qPCR *Cryptosporidium* + *Entamoeba* + *Giardia lamblia*). Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous :

Tableau 1. Résultats de **Vitassay Crypto** par rapport aux critères d'évaluation.

		Critères d'évaluation		
		Positif	Négatif	Total
Vitassay Crypto	Positif	33	0	33
	Négatif	2	91	93
	Total	35	91	126

Tableau 2. Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et négatives du **Vitassay Crypto** par rapport aux critères d'évaluation.

Vitassay Crypto vs Critères d'évaluation		
	Valeur moyenne	Intervalle de confiance à 95 %
Sensibilité	94,3 %	80,8 – 99,3 %
Spécificité	100 %	96-100 %
VPP	100 %	89,4-100 %
VPN	97,8%	92,4-99,7 %

En outre, une deuxième étude clinique a été menée pour comparer Vitassay Crypto à un kit commercial pour la détection et la différenciation de *Cryptosporidium*, *Giardia* et *Entamoeba*. Les échantillons discordants ont été analysés à l'aide d'une technique de PCR en temps réel marquée CE-IVD. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous :

Tableau 3. Résultats du **Vitassay Crypto** par rapport à la méthode de référence.

		Méthode de référence		
		Positif	Négatif	Total
Vitassay Crypto	Positif	45	1	46
	Négatif	2	147	149
	Total	47	148	195

Tableau 4. Résultats de la sensibilité, de la spécificité, des valeurs prédictives positives et négatives du kit **Vitassay Crypto** par rapport à la méthode de référence.

Vitassay Crypto vs Méthode de référence			
Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
95,7 % (85,5-99,5 %)	99,3 % (96,3-100 %)	97,8 % (88,5-99,9 %)	98,7 % (95,2-99,8 %)

Les résultats ont montré que **Vitassay Crypto** a une sensibilité et une spécificité élevées pour détecter le *Cryptosporidium*.

Réactivité croisée

Aucune réactivité croisée n'a été détectée contre les agents pathogènes gastro-intestinaux occasionnellement présents dans les matières fécales :

Adénovirus	<i>Escherichia coli</i> O:026	<i>Salmonella paratyphi A</i>
Astrovirus	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella typhi</i>
Calprotectine	Hémoglobine bovine	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Campylobacter coli</i>	Hémoglobine humaine	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	Hémoglobine porcine	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i> GDH Ag	Lactoferrine humaine	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxine A	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxine B	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus pyogenes</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Norovirus GI	<i>Staphylocoque pneumocoque</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	Norovirus GII	Transferrine humaine
<i>Escherichia coli</i> O:157	Rotavirus	<i>Yersinia Enterocolitica</i> O:3
<i>Escherichia coli</i> O:111	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Yersinia Enterocolitica</i> O:9
<i>Giardia</i> a-1 giardin/CWP1		

RÉFÉRENCES

- 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 TADESSE. "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.
- 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.

SYMBOLES IVD POUR DES COMPOSANTS ET RÉACTIFS

	Dispositif de diagnostic <i>in vitro</i>		Maintenir au sec
	Consulter la notice d'utilisation		Limitation de température
	Expire le		Fabricant
	N° de lot		Quantité suffisamment pour <n> tests.
DIL	Diluant de l'échantillon		Code produit
	Marquage CE		

Contrôle des modifications		
N° Version	Changements	Date
IUE-7355033-67 Ed00 Octobre 2018	Version originale	10/2018
IUE-7355033-67 Ed01 Mai 2024	<p>Format mis à jour. Mise à jour des précautions et des limites. Correction d'une erreur de transcription dans l'interprétation des résultats. Ajout d'une nouvelle évaluation et mise à jour de la réactivité croisée. Modifications rédactionnelles et grammaticales dans les sections Précautions, Limitations, Collecte des échantillons, Préparation des échantillons, Stockage et Stabilité. Le matériel requis non inclus a été mis à jour avec des changements mineurs.</p>	24/05/2024