

CRYPTOSPORIDIUM II™

A Monoclonal ELISA for the Detection of
Cryptosporidium Oocyst Antigen In Fecal Specimens

Catalog No. 30406 (96 Tests)

IVD *In Vitro* Diagnostic Medical Device

ESPAÑOL p. 9

ELISA monoclonal para la detección de antígenos
de ovoquistes de *Cryptosporidium* en muestras fecales
Prod. No. 30406 (96 Pruebas)

IVD Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

DEUTSCH p. 16

Ein monoklonaler ELISA zum Nachweis des
Cryptosporidium Oozysten-Antigens in Stuhlproben
Katalognummer. 30406 (96 Tests)

IVD *In-Vitro*-Diagnostikum

FRANÇAISE p. 24

Un ELISA monoclonal pour la détection de l'antigène des oocystes
Cryptosporidium dans des échantillons de selles
Numéro de Catalogue 30406 (96 Analyses)

IVD Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

Made in the USA

Developed and Manufactured by:



TECHLAB®

2001 Kraft Drive

Blacksburg, VA 24060-6358 USA

www.techlab.com

TEL 1-800-832-4522 USA

TEL 1-540-953-1664 Outside USA



EC REP Emergo Europe
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

CRYPTOSPORIDIUM II™

INTENDED USE

The *CRYPTOSPORIDIUM II*™ test is an enzyme immunoassay for the qualitative detection of *Cryptosporidium* oocyst antigen in human fecal specimens. It is indicated for use as an aid in the diagnosis of patients with diarrhea suspected of *Cryptosporidium* gastrointestinal infection.

Caution: U.S. Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a physician.

EXPLANATION

Cryptosporidium spp. is a protozoan parasite of vertebrates previously thought to cause diarrhea only in animals (1). In 1976, the first human infection was reported (2). Since then it has been found to be associated with diarrheal illness in most parts of the world and is a frequent cause of travelers' diarrhea (1,3).

The disease is transmitted by the thick-walled oocyst form, 2-6 µm in diameter, which is remarkably resistant to common disinfectants and routine chlorination of drinking water. Person-to-person transmission, especially among children, is common (4). *Cryptosporidium* has little or no host specificity, and animals such as rodents, cattle and domestic pets serve as a reservoir for zoonotic transmission to humans (1,5). Such transmission occurs either by direct contact or by contamination of water supplies with fecal matter (1,6-8). Cryptosporidiosis is a serious opportunistic infection in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and is potentially a sexually transmitted disease (6,9). Clinical manifestations of cryptosporidiosis include cholera-like diarrhea, abdominal pain, nausea, vomiting and weight loss. In normal persons the infection is usually self-limiting and of short term. In AIDS and other immunosuppressed patients, cryptosporidiosis can result in prolonged and life-threatening illness due to excessive fluid loss. In these patients the infection may also spread to the respiratory and biliary tracts (6).

BIOLOGICAL PRINCIPLES

The *CRYPTOSPORIDIUM II*™ test uses monoclonal and polyclonal antibodies to *Cryptosporidium* oocyst antigen. The *Microassay Plate* in the kit contains an immobilized monoclonal antibody against *Cryptosporidium* oocyst antigen, and the *Conjugate* consists of a polyclonal antibody against *Cryptosporidium* oocyst antigen. In the assay, an aliquot of a diluted fecal specimen is transferred to a microassay well. If *Cryptosporidium* oocyst antigen is present, it binds to the immobilized monoclonal antibody. Upon addition, *Conjugate* then binds to the antigen/antibody complex. Any unbound materials are removed during the washing steps. Following the addition of substrate, a color is detected due to the enzyme-antibody-antigen complexes that formed in the presence of *Cryptosporidium* oocyst antigen and *Conjugate*.

MATERIALS PROVIDED

CONJ ENZ	Conjugate , 7 mL (Rabbit polyclonal antibody to a <i>Cryptosporidium</i> oocyst antigen coupled to horseradish peroxidase in a protein buffered solution containing 0.02% thimerosal)*
DIL SPE	Diluent , 50 mL (Buffered protein solution containing 0.02% thimerosal)*. The <i>Diluent</i> is also to be used as the negative control solution (see TEST PROCEDURE).
H ₂ SO ₄ 0.6N	Stop Solution , 7 mL (0.6N sulfuric acid). Caution: Avoid contact with skin. Flush with water immediately if contact occurs. Signal Word: Danger H314: Causes severe skin burns and eye damage P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353, P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501
CONTROL +	Positive Control , 3.5 mL (Heat-inactivated bovine fecal material containing <i>Cryptosporidium</i> oocyst antigen in a protein buffered solution with 0.02% thimerosal)*



SUBS **REAG** **Substrate**, 14 mL (solution containing tetramethylbenzidine and peroxide)
WASHBUF **20X** **Wash Buffer Concentrate**, 50 mL (20X concentrate containing phosphate-buffered saline, detergent and 0.2% thimerosal)*

Signal Word: Warning

H373: May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure

H411: Toxic to aquatic life with long lasting effects

P260, P273, P314, P391, P501



MA **PLT** **Microassay Plate**, 12 strips, each consisting of 8 wells coated with monoclonal antibody to *Cryptosporidium* oocyst antigen (stored with desiccant)

2 plastic adhesive sheets

100 graduated disposable pipettes

*contains mercury



MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Squirt bottle for wash reagent

950 mL distilled water for diluting wash reagent

Absorbent paper

ELISA reader capable of reading at 450 nm or 450/620 nm

Vortex mixer

Discard container

Microcentrifuge tubes

Applicator sticks

PRECAUTIONS

1. Rx Only - Prescription Only
2. For *in vitro* diagnostic use. For professional use only.
3. Reagents from different kits should not be mixed. Do not use a kit past the assigned expiration date.
4. Reagents should be brought to room temperature before use.
5. Caps and tips are color-coded; do not mix.
6. Each component in the kit should be inspected for any signs of leakage. Upon arrival, the kit should be inspected to ensure that components are not frozen or warm to the touch due to improper shipping conditions.
7. When handling assay wells, avoid scratching the bottom of the wells because this may result in elevated absorbance readings.
8. Hold dropper bottles vertically when dispensing to ensure proper drop size.
9. Unused microassay wells must be immediately placed back inside the resealable pouch with the desiccant and sealed to protect from moisture.
10. Perform the washing procedure as directed to avoid high background reactions.
11. The *Substrate* is light sensitive and should be protected from direct sunlight or UV sources. If the *Substrate* is exposed to light and develops a color, it must be discarded.
12. Optimal results are obtained by following the specified test procedure. The concentrations, incubation conditions, and processing specifications have been optimized for sensitivity and specificity. Alterations of the specified procedure and/or test conditions may affect the sensitivity and specificity of the test.
13. Microbial contamination of reagents may decrease the accuracy of the assay. Avoid microbial contamination of reagents by using sterile disposable pipettes if removing aliquots from reagent bottles.
14. Handle specimens and used microassay wells as if capable of transmitting infectious agents. Wear disposable gloves when doing the test.
15. The 20X *Wash Buffer Concentrate* contains 0.2% Thimerosal as a preservative. Once diluted to normal use concentration this solution is classified as non-hazardous. The *Stop Solution* contains 0.6N sulfuric acid. Flush with water immediately if contact occurs. Take off contaminated clothing and wash it before reuse. Handle reagents

according to existing regulations for laboratory safety and good laboratory practice. Safety Data Sheets for this product are available upon request, contact technical support.

16. Follow your national, regional, and local ordinances accordingly for waste disposal regulations. Do not place in trash, dispose of as hazardous waste.

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date of this kit is given on the box label. Expiration dates for each component are listed on individual labels. The kit should be stored between 2° and 8°C and should be returned to the refrigerator as soon as possible after use.

SPECIMEN HANDLING

1. Standard collection and handling procedures used in-house for fecal specimens for culture are appropriate. No modification of collection methods used for standard microscopic O&P examinations is needed.
2. Fecal specimens may be used as unpreserved or frozen, or in preservation media of 10% buffered formalin, Sodium Acetate Formalin (SAF) or transport medium such as Cary Blair and C&S.
3. Unpreserved specimens should be kept between 2° and 8°C and tested within 24 hours of collection. Specimens that cannot be tested within this time should be stored at -20°C or less until tested.
4. Preserved specimens may be kept at room temperature and tested within 18 months of collection.
5. Concentration steps are not needed (or recommended) for fecal specimens.
6. Make sure that specimens are thoroughly mixed (vortexed) prior to performing the test. This includes complete mixing of the specimen prior to transfer to the *Diluent* and/or microassay well.
7. All dilutions of specimens must be made with *Diluent*.

REAGENT PREPARATION

1. The contents of the kit should be brought to room temperature before use.
2. Prepare 1X *Wash Solution*. The *Wash Buffer Concentrate* is supplied as a 20X concentrate (a precipitate may be noticed). It should be diluted to a total volume of 1 liter by adding 50 mL of the concentrate to 950 mL of distilled water. The 1X *Wash Solution* can be stored between 2° and 8°C.
3. All reagents, with the exception of the *Wash Buffer Concentrate*, are supplied in ready-to-use bottles. Reagents can be dispensed directly from the dropper bottles or decanted for use with multichannel pipettes. If excess reagent has been decanted, the excess should be discarded. Do not pour back into the bottle. The *Substrate* should be stored in and used from the light-protected bottle in which it is supplied. If an aliquot is removed from the original bottle for any reason, do not return unused *Substrate* to the original bottle.

SPECIMEN PREPARATION

1. Fresh/Frozen Fecals: Frozen fecal specimens should be thawed. Add 400 µL of *Diluent* to a microcentrifuge tube (one tube per sample), then add 100 µL (2nd graduation mark on pipette) of fecal sample to the tube and mix well. If the specimen cannot be pipetted, use an applicator stick to transfer approximately 0.1 gram of feces. This is about the size of a small pea (about 4 mm in diameter).
2. Preserved Fecals: Mix (vortex) contents of container thoroughly before transferring specimen. No further processing or dilution is necessary.

TEST PROCEDURE

1. Prepare two control wells to serve as positive and negative controls each time the test is performed. For the positive control, shake the *Cryptosporidium Positive Control* bottle (white cap) for several seconds, then add one drop (50µL) to the positive control well, and add 2 drops (100 µL) of *Diluent* to the negative control well.

- If fresh or frozen samples (i.e. unpreserved) are to be used, make a dilution as stated in SPECIMEN PREPARATION above.
- Transfer 100 μL of *Diluent* to each test well of the *Microassay Plate*. Using plastic pipettes, transfer 1 drop (50 μL , 1st graduation mark on pipette) of sample (preserved or diluted as above) to each test well already containing *Diluent* and gently tap the wells to mix. Seal with a plastic adhesive sheet and incubate for 1 hour at room temperature.
- Shake out contents of assay wells into a discard pan. Wash each well using the 1X *Wash Solution* in a squirt bottle with a fine-tipped nozzle, directing the *Wash Solution* to the bottom of the well with force. Fill the wells, shake the wash solution out of the wells into a discard pan and slap the plate hard onto a dry paper towel. Repeat the washing step 4X (for a total of 5 washes). If any fecal material remains in the wells, wash the plate until it appears clean. (Go to www.techlab.com for additional information on ELISA well washing)
- After washing, completely remove any residual liquid in the wells by striking the plate onto a dry paper towel until no liquid comes out. Dispose of paper towels and specimen containers properly.
- Add 1 drop (50 μL) of *Conjugate* (red cap) to each well and gently tap to mix. Seal with a plastic adhesive sheet. Incubate the wells for 30 minutes at room temperature.
- Repeat the washing procedure (Steps 4 and 5).
- Add 2 drops (100 μL) of *Substrate* (blue cap) to each well. Gently tap the wells to mix. Incubate the wells at room temperature for 10 minutes.
- Add 1 drop (50 μL) of *Stop Solution* (yellow cap) to each well. Gently tap the wells to mix and wait 2 minutes before reading. The addition of the *Stop Solution* converts the blue color to a yellow color, which may be quantitated by measuring the absorbance at 450 nm on a microplate ELISA reader. The instrument should be blanked against air. Wipe the underside of each well before measuring the absorbance. If a dual reader is used, blank against air at 620 nm and read at 450 nm. Visual readings should be noted. Read within ten minutes after adding *Stop Solution*.

QUALITY CONTROL

- A positive and a negative control must be run with each series of test specimens. The positive control demonstrates that the assay is functioning properly for the detection of *Cryptosporidium* oocyst antigen in fecal specimens. The negative control demonstrates that the assay is reacting specifically.
- Each positive control well should be an easily visible yellow color and should give an absorbance of 0.500 or higher. Any well that gives a positive reading without visible color should be repositioned, wiped on the underside of the well, and read again.
- Negative control wells should be colorless or may have a faint yellow color but they must have an absorbance value of <0.150 when read on single wavelength (OD_{450nm}) or <0.090 when read on dual wavelength (OD_{450/620nm}).
- Test results are not valid unless the performance characteristics of the positive and negative controls are met. If these results are not observed, call Technical Services.
- Test results along with control absorbance values should be recorded and reported according to in-house procedures and should be stored according to in-house procedures for future reference.

INTERPRETATION OF RESULTS

Absorbance		Visual Color	Interpretation
450 nm	450/620 nm		
< 0.150	< 0.090	Clear to slight yellow	Negative – Antigen is not detected. Below the detectable limits of the assay.
≥ 0.150	≥ 0.090	Pale yellow to strong yellow	Positive - Specimen contains <i>Cryptosporidium</i> antigen

Visual Interpretation

Negative: Any sample that is colorless or resembles the negative control well in intensity of color. Antigen is not detected. Below the detectable limits of the assay.

Positive: Any sample that is obviously more yellow than the negative control well. Specimen contains *Cryptosporidium* antigen.

NOTE: The negative control, as well as some test wells, may show some slight yellow color. A sample well must be obviously more yellow than the negative control well to be called a positive result.

Spectrophotometric Interpretation

1. Determine the absorbance value of the negative control.
The negative control reading should be $< 0.150 \text{ OD}_{450}$ or $< 0.090 \text{ OD}_{450/620}$. If not, the test is invalid and should be repeated, paying attention to the wash procedure.

2. The reading for the *Positive Control* should be ≥ 0.500 .

3. Test results

Negative: < 0.150 (absorbance at 450 nm) or < 0.090 (absorbance at 450/620 nm).
Antigen is not detected. Below the detectable limits of the assay.

Positive: ≥ 0.150 (absorbance at 450 nm) or ≥ 0.090 (absorbance at 450/620 nm).
Specimen contains *Cryptosporidium* antigen.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The *CRYPTOSPORIDIUM II*TM test detects the presence of *Cryptosporidium* oocyst antigen in fecal specimens.
2. The test results should be interpreted by a physician in consideration of other laboratory results and clinical history.
3. Concentrated fecal specimens should not be tested in the *CRYPTOSPORIDIUM II*TM test and will not give accurate results.
4. The *CRYPTOSPORIDIUM II*TM test is intended for the qualitative detection of *Cryptosporidium* oocyst antigen in fecal specimens. It has not been evaluated for quantitative determinations of organism load, and the magnitude of the absorbance value is not intended to correlate with organism load.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

An independent diagnostics laboratory evaluated the *CRYPTOSPORIDIUM II*TM test for its ability to detect *Cryptosporidium* antigens in preserved fecal specimens. Of the 185 specimens analyzed by microscopy 44 were positive for *Cryptosporidium*. Each specimen was subsequently tested using the *CRYPTOSPORIDIUM II*TM test. Results are summarized in Table 1.

Table 1. Comparison of the *CRYPTOSPORIDIUM II*TM test with microscopy for detection of *Cryptosporidium*.

Total Samples (n = 185)		Microscopy	
		Positive	Negative
<i>CRYPTOSPORIDIUM II</i>TM	Positive	43	0
	Negative	1	141

		95% CI
Sensitivity	97.7%	86.5% - 99.9%
Specificity	100%	96.7% - 100%
Predictive Positive Value	100%	89.8% - 100%
Predictive Negative Value	99.3%	95.6% - 99.9%
Correlation	99.5%	99.3% - 99.6%

CROSS REACTIVITY

An independent diagnostics laboratory evaluated the *CRYPTOSPORIDIUM II*TM test using fecal specimens found to be positive for a variety of intestinal pathogens. No cross reactivity was observed with fecal specimens that contained any of the pathogens listed below. The number of specimens tested with each organism is shown in parentheses.

Ascaris lumbricoides eggs (5) *Blastocystis hominis* (35) *Chilomastix mesnili* (1)
Cyclospora cayetanensis (2) *Dientamoeba fragilis* (23) *Diphylobothrium latum* eggs (1)
Endolimax nana (37) *Entamoeba coli* (22) *Entamoeba hartmanni* (3)
Entamoeba histolytica/E. *dispar* (7) *Enterobius vermicularis* eggs (4)
Giardia lamblia (40) Hookworm eggs (1) *Hymenolepis nana* eggs (4)
Iodamoeba bütschlii (4) *Strongyloides stercoralis* larvae (3)
Taenia spp. eggs (1) *Trichuris trichiura* eggs (2)

The *CRYPTOSPORIDIUM II*TM test was evaluated for crossreactivity with the bacterial and viral strains listed below. None of the strains were shown to crossreact with the *CRYPTOSPORIDIUM II*TM test.

Aeromonas hydrophila *Bacillus cereus* *Bacillus subtilis*
Bacteroides fragilis *Campylobacter coli* *Campylobacter fetus*
Clostridium bifermentans *Clostridium difficile* *Enterococcus faecalis*
Escherichia coli *Escherichia coli* 0157H7
Escherichia coli EIEC (enteroinvasive)
Escherichia coli EPEC (enteropathogenic)
Escherichia coli ETEC (enterotoxigenic) *Klebsiella pneumoniae*
Salmonella typhimurium *Shigella dysenteriae* *Shigella flexneri*
Staphylococcus aureus *Staphylococcus aureus* (Cowan's)
Staphylococcus epidermidis *Vibrio parahaemolyticus* *Yersinia enterocolitica*
Adenovirus types 1, 2, 3, 5, 40, 41 Cocksackievirus B2, B3, B4, B5
Echovirus 9, 11, 18, 22, 33 Enterovirus types 68, 69, 70, 71
Human coronavirus

INTERFERING SUBSTANCES

The following substances had no effect on positive or negative test results analyzed at the concentrations indicated: mucin (3.5% w/v), human blood (40% w/v), Imodium[®] (5% w/v), Kaopectate[®] (5 mg/mL), Pepto-Bismol[®] (5% w/v), fecal fat (stearic acid 40% w/v), Metronidazole (0.25% w/v), Vancomycin (0.25% w/v).

SPECIMEN PRESERVATIVE COMPATIBILITY

The *CRYPTOSPORIDIUM II*TM test was examined for compatibility with preserved fecal specimens during an in-house evaluation. No effect on sensitivity or specificity was observed with specimens preserved in 10% buffered formalin or Sodium Acetate Formalin (SAF) or with specimens stored in transport media such as Cary Blair and C&S.

PRECISION – INTRA-ASSAY

The intra-assay % Coefficient of Variation (CV) was determined for the *CRYPTOSPORIDIUM II*[™] test by analyzing four fecal specimens positive for *Cryptosporidium* and four negative fecal specimens. Each specimen was assayed in eight test wells. The average %CV for positive specimens was 4.91. The average %CV for negative specimens was 2.71.

PRECISION - INTER-ASSAY

The inter-assay % Coefficient of Variation (CV) was determined for the *CRYPTOSPORIDIUM II*[™] test by analyzing four fecal specimens positive for *Cryptosporidium* and for negative fecal specimens. Each specimen was assayed during five independent assay runs conducted over a four-day period using the *CRYPTOSPORIDIUM II*[™] kit. The average %CV for positive specimens was 18.14. The average %CV for negative specimens was 2.51.

EXPECTED VALUES

Normal healthy individuals should not be infected with *Cryptosporidium* and should test negative in the *CRYPTOSPORIDIUM II*[™] test. A positive test result in the *CRYPTOSPORIDIUM II*[™] test indicates that the person is shedding detectable amounts of *Cryptosporidium* oocyst antigen. The incidence of *Cryptosporidium* infection varies significantly between populations and geographic regions. In general, laboratory-confirmed incidence of cryptosporidiosis in developed countries ranges from 1 to 2% overall, with a higher incidence in children (10).

USO PREVISTO

La prueba *CRYPTOSPORIDIUM II™* es un ensayo inmunoenzimático para la detección cualitativa de antígenos de ovoquistes de *Cryptosporidium* en muestras fecales humanas. Su uso está indicado como ayuda al diagnóstico de pacientes con diarrea por sospecha de infección gastrointestinal por *Cryptosporidium*.

Precaución: La Ley Federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo o bajo prescripción médica.

FUNDAMENTO

Las especies de *Cryptosporidium* son protozoos parásitos de vertebrados; anteriormente se pensaba que causaban diarrea sólo en animales (1). En 1976 se notificó el primer caso de infección en seres humanos (2). Desde entonces se ha asociado a diarrea en la mayor parte del mundo y es una causa frecuente de diarrea del viajero (1,3).

La enfermedad es transmitida por el ovoquiste de pared gruesa, de 2-6 µm de diámetro, que presenta una gran resistencia a los desinfectantes comunes y la cloración rutinaria del agua potable. La transmisión persona a persona, especialmente entre niños, es común (4). El *Cryptosporidium* tiene poca o nula especificidad por el hospedador y animales como roedores, vacas y mascotas domésticas sirven como reservorio para la transmisión zoonótica a seres humanos (1,5). Ésta ocurre bien por contacto directo o por contaminación de los suministros de agua con material fecal (1,6-8). La criptosporidiosis es una infección oportunista grave en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y es una enfermedad de transmisión sexual potencial (6,9). Las manifestaciones clínicas de la criptosporidiosis incluyen diarrea coleriforme, dolor abdominal, náuseas, vómitos y pérdida de peso. En personas normales la infección es habitualmente autolimitada y de corta duración. En pacientes con SIDA e inmunodeprimidos, la criptosporidiosis puede causar una enfermedad prolongada y potencialmente mortal por la pérdida excesiva de líquidos. En estos pacientes, la infección puede también propagarse a las vías respiratorias y biliares (6).

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

La prueba *CRYPTOSPORIDIUM II™* utiliza anticuerpos monoclonales y policlonales frente al antígeno de los ovoquistes de *Cryptosporidium*. La *Placa para microanálisis* del kit contiene un anticuerpo monoclonal inmovilizado frente al antígeno de ovoquistes de *Cryptosporidium* y el *Conjugado* consiste en un anticuerpo policlonal frente al antígeno de ovoquistes de *Cryptosporidium*. En el ensayo, una alícuota de una muestra fecal diluida se transfiere a un pocillo de microanálisis. Si está presente el antígeno del ovoquiste de *Cryptosporidium*, se une al anticuerpo monoclonal inmovilizado. Al añadirlo, el *Conjugado* se une entonces al complejo antígeno/anticuerpo. Cualquier material no unido se retira durante los pasos de lavado. Tras la adición de un Sustrato, se detecta un color debido a los complejos enzima-anticuerpo-antígeno que se forman en presencia de los antígenos del ovoquiste de *Cryptosporidium* y del *Conjugado*.

MATERIALES PROVISTOS

CONJ	ENZ
------	-----

Conjugado. 7 mL (anticuerpo policlonal de conejo frente a un antígeno de ovoquiste de *Cryptosporidium* acoplado a peroxidasa de rábano en una solución tamponada de proteína que contiene 0,02% de timerosal)*

DIL	SPE
-----	-----

Diluyente. 50 mL (solución de proteína tamponada que contiene 0,02% de timerosal)*. El *Diluyente* también se usa como solución de control negativo (véase PROCEDIMIENTO DE PRUEBA).

H ₂ SO ₄	0.6N
--------------------------------	------

Solución de parada. 7 mL (ácido sulfúrico 0,6N) Atención: Evite el contacto con la piel. En caso de contacto, aclarar inmediatamente con agua.

Palabra de advertencia: Peligro

H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves

P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353, P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501



CONTROL +

Control Positivo, 3,5 mL (material fecal bovino inactivado por calor que contiene antígeno del ovoquiste de *Cryptosporidium* en una solución de proteína tamponada con 0,02% de timerosal)*.

SUBS REAG

Sustrato, 14 mL (solución que contiene tetrametilbenzidina y peróxido).

WASHBUF 20X

Tampón de lavado concentrado, 50 mL (concentrado 20x que contiene suero fisiológico tamponado con fosfato, detergente y 0,2% de timerosal)*.

Palabra de advertencia: Advertencia

H373: Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas

H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P260, P273, P314, P391, P501



MA PLT

Placa para microanálisis, 12 tiras cada una consistente en 8 pocillos recubiertos con anticuerpos monoclonales frente al antígeno del ovoquiste de *Cryptosporidium* (conservadas con desecante).

Dos hojas adhesivas de plástico

100 pipetas graduadas desechables

*contiene mercurio



MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

Frasco con rociador para el reactivo de lavado

950 mL de agua destilada para diluir el reactivo de lavado

Papel absorbente

Lector de ELISA capaz de leer a 450 nm o 450/620 nm

Mezclador de tipo vórtex

Contenedor desechable

Tubos para microcentrifuga

Varillas aplicadoras

PRECAUCIONES

1. Rx Only - Solo con receta
2. Para uso diagnóstico *in vitro*. Exclusivamente para uso profesional.
3. No deben mezclarse los reactivos de kits diferentes. No utilice los kits después de la fecha de caducidad asignada.
4. Los reactivos deben atemperarse a temperatura ambiente antes de su uso.
5. Los tapones y las puntas están codificadas con colores y no deben mezclarse.
6. Cada componente del kit debe inspeccionarse por cualquier posible signo de fugas. Al recibirlo, el kit debe inspeccionarse para comprobar que los componentes no están congelados ni calientes al tacto debido a condiciones de envío inadecuadas.
7. Cuando se manipulen pocillos de ensayo, evitar el rascado del fondo de los pocillos, ya que esto podría causar lecturas de absorbancia elevadas.
8. Sostenga los frascos del gotero verticalmente cuando dispense las gotas para garantizar un tamaño de gota adecuado.
9. Los pocillos de microanálisis no utilizados deben colocarse de nuevo en la bolsa resellable junto con el desecante para protegerlos de la humedad.
10. Efectuar el procedimiento de lavado tal como se indica, para evitar reacciones de fondo elevadas.
11. El **Sustrato** es sensible a la luz y debe protegerse de la luz solar directa o de fuentes de UV. Si el **Sustrato** se expone a la luz y aparece color, debe rechazarse.
12. Se obtienen resultados óptimos siguiendo el procedimiento de la prueba especificado. Las concentraciones, las condiciones de incubación y las especificaciones de procesamiento se han optimizado para mejorar la sensibilidad y la especificidad de la prueba. La modificación del procedimiento especificado y/o de las condiciones de la prueba puede alterar su sensibilidad y especificidad.
13. La contaminación microbiana de los reactivos puede menoscabar la precisión del análisis. Evite la contaminación microbiana de los reactivos utilizando pipetas estériles desechables cuando extraiga alícuotas de los frascos de reactivos.

14. Manipular las muestras y los pocillos de microanálisis utilizados como potenciales transmisores de agentes infecciosos. Utilice guantes desechables para realizar el test.
15. El *Concentrado de tampón de lavado 20X* contiene timerosal al 0,2% como conservante. Una vez diluida hasta la concentración de uso normal, esta solución se clasifica como no peligrosa. La Solución de Parada contiene ácido sulfúrico 0,6 N. Aclarar inmediatamente con agua si se produce el contacto. Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. Manejar los reactivos de acuerdo con las normas existentes de seguridad de laboratorio y buenas prácticas de laboratorio. Se dispone de fichas de datos de seguridad de este producto bajo pedido, consultar al soporte técnico.
16. Siga las normas nacionales, regionales y locales para consultar los reglamentos de eliminación de residuos. No lo tire a la basura, elimínelo como residuo peligroso.

PERÍODO DE VALIDEZ Y CONSERVACIÓN

La fecha de caducidad del kit se indica en la etiqueta de la caja. Las fechas de caducidad de cada componente se indican en las etiquetas individuales. El kit debe conservarse entre 2° y 8° C y debe devolverse a la nevera tan pronto como sea posible después del uso.

MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS

1. Los procedimientos internos estándar habituales de recogida y manipulación de las muestras fecales para el cultivo son adecuados. No se necesita ninguna modificación de los métodos de recogida utilizados para los exámenes microscópicos estándar de huevos y parásitos.
2. Las muestras fecales pueden utilizarse sin conservar o congeladas, o en un medio de conservación de formol tamponado al 10%, acetato sódico-formol (SAF) o medio de transporte como Cary Blair y C&S.
3. Las muestras no conservadas deberán mantenerse entre 2° y 8° C y analizarse en las 24 horas siguientes a su obtención. Las muestras que no puedan analizarse en ese tiempo deberán almacenarse a -20° C o menos hasta el momento de su análisis.
4. Las muestras conservadas pueden mantenerse a temperatura ambiente y analizarse en los 18 meses siguientes a su obtención.
5. No son necesarios (ni recomendados) los pasos de concentración para muestras fecales.
6. Es necesario asegurarse de que las muestras estén completamente mezcladas (con el vórtex) antes de realizar la prueba. Esto incluye el mezclado completo de la muestra antes de su transferencia al *Diluyente* o al pocillo de microanálisis.
7. Todas las diluciones de muestras deben efectuarse con *Diluyente*.

PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. El contenido del kit debe atemperarse hasta la temperatura ambiente antes de su uso.
2. Preparar *Solución de lavado 1x*. El *Concentrado de tampón de lavado* se suministra como concentrado 20x (se puede apreciar un precipitado). Se debe diluir hasta un volumen total de 1 litro añadiendo 50 mL del concentrado y 950 mL de agua destilada. La *Solución de lavado 1x* puede almacenarse a entre 2° y 8° C.
3. Todos los reactivos, a excepción del *Tampón de lavado concentrado*, se suministran en frascos listos para usar. Los reactivos pueden dispensarse directamente de los frascos con gotero o decantarse para su uso con pipetas multicanal. Si se ha decantado una cantidad excesiva de reactivo, deberá eliminar el sobrante. No vuelva a introducirlo en el frasco. El *Sustrato* debe almacenarse y utilizarse del frasco protegido de la luz en el que se suministra. Si, por cualquier motivo, se elimina una alícuota del frasco original, no debe volver a introducirse el *Sustrato* no utilizado en el frasco original.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

1. Muestras fecales frescas / congeladas: Las muestras fecales congeladas deben descongelarse. Añadir 400 µL de *Diluyente* a un tubo de microcentrífuga (un tubo por muestra) y luego añadir 100 µL (2ª marca de graduación de la pipeta) de muestra fecal al tubo y mezclar bien. Si la muestra no puede pipetarse, utilizar una varilla aplicadora para transferir aproximadamente 0,1 g de heces. Es decir, como el tamaño de un guisante (unos 4 mm de diámetro).
2. Muestras fecales conservadas: Mezclar (con vórtex) el contenido del envase completamente antes de transferir la muestra. No es necesario efectuar más procesos o diluciones.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Preparar dos pocillos de control para utilizarlos como controles positivos y negativos cada vez que se realice la prueba. Para el control positivo, agite el frasco del *Control Positivo de Cryptosporidium* (con el tapón) durante unos segundos; seguidamente, añadir una gota (50 µL) al pocillo de control positivo y añadir 2 gotas (100 µL) de *Diluyente* al pocillo de control negativo.
2. Si se utilizan muestras frescas o congeladas (es decir, no conservadas), preparar la dilución como se indica más arriba en PREPARACIÓN DE MUESTRAS.
3. Transferir 100 µL de *Diluyente* a cada pocillo de prueba de la *Placa de microanálisis*. Utilizando pipetas de plástico, transferir 1 gota (50 µL, 1ª marca de graduación de la pipeta) de muestra (conservada o diluida como se indica arriba) a cada pocillo de prueba que ya contenga *Diluyente* y golpear suavemente los pocillos para que se mezclen. Sellar con la hoja adhesiva de plástico e incubar durante 1 hora a temperatura ambiente.
4. Vaciar el contenido de los pocillos de ensayo en un contenedor de desechos. Lavar cada pocillo con la *Solución de lavado* 1x en un frasco con rociador con boquilla de punta fina, dirigiendo con fuerza la *Solución de lavado* al fondo del pocillo. Llenar los pocillos, eliminar la solución de lavado de los pocillos en un contenedor de desechos y golpear la placa con fuerza sobre una toalla de papel seca. Repetir el proceso de lavado cuatro veces (para un total de cinco lavados). Si permanece algo de material fecal en los pocillos, lavar la placa hasta que se vea limpia. (Puede ver más información sobre el lavado de pocillos de ELISA en www.techlab.com).
5. Después del lavado, retire completamente cualquier líquido residual de los pocillos golpeando la placa sobre una toalla de papel seca hasta que no salga más líquido. Eliminar adecuadamente las toallas de papel y los contenedores de muestras.
6. Añadir una gota (50 µL) de *Conjugado* (tapón rojo) a cada pocillo y golpear suavemente para mezclarlos. Sellar con la hoja adhesiva de plástico. Incubar los pocillos durante 30 minutos a temperatura ambiente.
7. Repetir el procedimiento de lavado (pasos 4 y 5).
8. Añadir dos gotas (100 µL) de *Sustrato* (tapón azul) a cada pocillo. Golpear suavemente los pocillos para mezclarlos. Incubar los pocillos durante 10 minutos a temperatura ambiente.
9. Añadir una gota (50 µL) de *Solución de parada* (tapón amarillo) a cada pocillo. Golpear suavemente los pocillos para mezclarlos y esperar 2 minutos antes de efectuar la lectura. La adición de la *Solución de parada* convierte el color azul en amarillo, lo que puede cuantificarse determinando la absorbancia a 450 nm en un lector de microplacas de ELISA. El instrumento debe calibrarse con aire. Antes de determinar la absorbancia, limpiar la parte inferior de cada pocillo para retirar la humedad. Si se utiliza un lector dual, calibrar con aire a 620 nm y leer a 450 nm. Se registrarán las lecturas visuales. Leer a los 10 minutos de añadir la *Solución de parada*.

CONTROL DE CALIDAD

1. Se efectuarán un control positivo y un control negativo con cada serie de muestras de prueba. El control positivo demuestra que la prueba funciona adecuadamente para

la detección de antígenos de ovoquistes de *Cryptosporidium* en muestras fecales. El control negativo demuestra que la prueba está reaccionando específicamente.

2. Cada pocillo de control positivo deberá tener un color amarillo fácilmente visible y deberá dar un valor de absorbancia de 0,500 o superior. Todo pocillo que dé una lectura positiva sin color visible deberá ser colocado de nuevo, se deberá limpiar la parte inferior del mismo para limpiar la humedad y se leerá nuevamente.
3. Los pocillos de control negativo deberán ser incoloros o bien tener un color amarillo pálido, pero el valor de absorbancia será $< 0,150$ cuando se lean con una longitud de onda única ($OD_{450\text{ nm}}$) o $< 0,090$ cuando se lean con longitud de onda dual ($OD_{450/620\text{ nm}}$).
4. Los resultados de la prueba no son válidos a menos que se cumplan las características de rendimiento de los controles positivo y negativo. Si estos resultados no se cumplen, llame al Servicio Técnico.
5. Los resultados de la prueba, junto con los valores de absorbancia de control, se registrarán y notificarán según los procedimientos internos y deben conservarse según los procedimientos internos para futuras referencias.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Absorbancia		<u>Color Visual</u>	<u>Interpretación</u>
450 nm	450/620 nm		
$< 0,150$	$< 0,090$	Transparente a amarillo pálido	Negativo - No se detecta antígeno Por debajo de los límites detectables del ensayo.
$\geq 0,150$	$\geq 0,090$	Amarillo pálido a amarillo intenso	Positivo - La muestra contiene antígeno de <i>Cryptosporidium</i>

Interpretación visual

Negativo: Toda muestra que sea incolora o se asemeje al pocillo de control negativo en intensidad de color. No se detecta antígeno. Por debajo de los límites detectables del ensayo.

Positivo: Toda muestra que sea claramente más amarilla que la muestra del pocillo de control negativo. La muestra contiene antígeno de *Cryptosporidium*.

NOTA: El control negativo, así como algunos pocillos de prueba, pueden mostrar un color amarillo pálido. La muestra debe ser evidentemente más amarilla que el control negativo para que el resultado se considere positivo.

Interpretación espectrofotométrica

1. Determinar el valor de la absorbancia del control negativo.
La lectura del control negativo debe ser $< 0,150 OD_{450}$ o $< 0,090 OD_{450/620}$. Si no, la prueba no es válida y deberá repetirse prestando atención al procedimiento de lavado.
2. Las lecturas del *Control Positivo* deben ser $\geq 0,500$.
3. Resultado de la prueba
Negativo: $< 0,150$ (absorbancia a 450 nm) o $< 0,090$ (absorbancia a 450/620 nm).
No se detecta antígeno. Por debajo de los límites detectables del ensayo.
Positivo: $\geq 0,150$ (absorbancia a 450 nm) o $\geq 0,090$ (absorbancia a 450/620 nm).
La muestra contiene antígeno de *Cryptosporidium*.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. La prueba *CRYPTOSPORIDIUM II™* detecta la presencia de antígenos del ovoquiste de *Cryptosporidium* en muestras fecales.
2. Los resultados de la prueba deberán ser interpretados por un médico teniendo en cuenta los demás resultados de laboratorio y la historia clínica.
3. No deben utilizarse muestras fecales concentradas con la prueba *CRYPTOSPORIDIUM II™*, ya que no darán resultados exactos.

4. La prueba *CRYPTOSPORIDIUM II*TM es un enzimoimmunoanálisis para la detección cualitativa de antígenos de ovoquistes de *Cryptosporidium* en muestras fecales. No se ha evaluado para las determinaciones cuantitativas de carga de microorganismos y la magnitud del valor de la absorbancia no se correlaciona necesariamente con la carga de microorganismos.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Un laboratorio de diagnóstico independiente evaluó la capacidad de la prueba *CRYPTOSPORIDIUM II*TM para detectar antígenos de *Cryptosporidium* en muestras fecales conservadas. De las 185 muestras analizadas por microscopía, 44 fueron positivas a *Cryptosporidium*. Cada muestra se analizó ulteriormente con la prueba *CRYPTOSPORIDIUM II*TM. Los resultados se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Comparación de la prueba *CRYPTOSPORIDIUM II*TM con la microscopía para la detección de *Cryptosporidium*

Muestras totales (n = 185)		Microscopía	
		Positiva	Negativa
<i>CRYPTOSPORIDIUM II</i> TM	Positiva	43	0
	Negativa	1	141

		IC del 95%
Sensibilidad	97,7%	86,5% - 99,9%
Especificidad	100%	96,7% - 100%
Valor predictivo positivo	100%	89,8% - 100%
Valor predictivo negativo	99,3%	95,6% - 99,9%
Correlación	99,5%	99,3% - 99,6%

REACTIVIDAD CRUZADA

Un laboratorio de diagnóstico independiente evaluó la prueba *CRYPTOSPORIDIUM II*TM utilizando muestras fecales positivas a una serie de patógenos intestinales. No se observó reactividad cruzada con las muestras fecales que contenían alguno de los patógenos enumerados a continuación. El número de muestras analizadas con cada microorganismo se muestra entre paréntesis.

<i>Ascaris lumbricoides</i> eggs (5)	<i>Blastocystis hominis</i> (35)	<i>Chilomastix mesnili</i> (1)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (2)	<i>Dientamoeba fragilis</i> (23)	<i>Diphyllobothrium latum</i> eggs (1)
<i>Endolimax nana</i> (37)	<i>Entamoeba coli</i> (22)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (3)
<i>Entamoeba histolytica</i> /E. <i>dispar</i> (7)		<i>Enterobius vermicularis</i> eggs (4)
<i>Giardia lamblia</i> (40)	Hookworm eggs (1)	<i>Hymenolepis nana</i> eggs (4)
<i>Iodamoeba bütschlii</i> (4)	<i>Strongyloides stercoralis</i> larvae (3)	
<i>Taenia</i> spp. eggs (1)	<i>Trichuris trichiura</i> eggs (2)	

Se evaluó la reactividad cruzada de la prueba *CRYPTOSPORIDIUM II*TM con las cepas bacterianas y víricas enumeradas a continuación. Ninguna de las cepas mostró reactividad cruzada con la prueba *CRYPTOSPORIDIUM II*TM.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Campylobacter coli</i>	<i>Campylobacter fetus</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157H7	
<i>Escherichia coli</i> EIEC (enteroinvasive)		
<i>Escherichia coli</i> EPEC (enteropathogenic)		
<i>Escherichia coli</i> ETEC (enterotoxigenic)		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Adenovirus types 1, 2, 3, 5, 40, 41		Coxsackievirus B2, B3, B4, B5
Echovirus 9, 11, 18, 22, 33		Enterovirus types 68, 69, 70, 71
Human coronavirus		

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Las siguientes sustancias no tuvieron ningún efecto en los resultados positivos o negativos de la prueba analizadas a las concentraciones indicadas: mucina (3,5% p/v), sangre humana (40% v/v), Imodium[®] (5% p/v), Kaopectate[®] (5 mg/mL), Pepto-Bismol[®] (5% p/v), grasa fecal (ácido esteárico 40% p/v), metronidazol (0,25% p/v), vancomicina (0,25% p/v).

COMPATIBILIDAD CON LOS CONSERVANTES DE MUESTRAS

Se estudió la compatibilidad de la prueba *CRYPTOSPORIDIUM II*[™] con muestras fecales conservadas durante una evaluación interna. No se observó ningún efecto sobre la sensibilidad ni la especificidad con las muestras conservadas en formol tamponado al 10% o en acetato sódico formol (SAF) o con muestras conservadas en medios de transporte como Cary Blair y C&S.

PRECISIÓN – INTRAANALÍTICA

Se determinó el porcentaje del coeficiente de variación (CV) intraanalítico de la prueba *CRYPTOSPORIDIUM II*[™] mediante el análisis de cuatro muestras fecales positivas a *Cryptosporidium* y cuatro muestras fecales negativas. Cada muestra se analizó en ocho pocillos de prueba. El porcentaje medio del CV para las muestras positivas fue de 4,91. El porcentaje medio del CV para las muestras negativas fue de 2,71.

PRECISIÓN – INTERANALÍTICA

Se determinó el porcentaje del coeficiente de variación (CV) interanalítico de la prueba *CRYPTOSPORIDIUM II*[™] mediante el análisis de cuatro muestras fecales positivas a *Cryptosporidium* y cuatro muestras fecales negativas. Se analizó cada muestra en cinco series independientes de pruebas efectuadas en un período de 4 días con el kit *CRYPTOSPORIDIUM II*[™]. El porcentaje medio del CV para las muestras positivas fue de 18,14. El porcentaje medio del CV para las muestras negativas fue de 2,51.

VALORES ESPERADOS

Los sujetos sanos normales no deben estar infectados por *Cryptosporidium* y deberían dar resultados negativos en la prueba *CRYPTOSPORIDIUM II*[™]. Un resultado positivo de la prueba *CRYPTOSPORIDIUM II*[™] indica que la persona está diseminando cantidades detectables de antígeno de ovoquistes de *Cryptosporidium*. La incidencia de infección por *Cryptosporidium* varía significativamente entre diferentes poblaciones y regiones geográficas. En general, la incidencia de criptosporidiosis confirmada por laboratorio en países desarrollados oscila entre el 1% y el 2%, con una incidencia mayor en niños (10).

CRYPTOSPORIDIUM II™ - DEUTSCH

VERWENDUNGSZWECK

Der *CRYPTOSPORIDIUM II*™-Test ist ein Enzym-Immunoassay für den qualitativen Nachweis des *Cryptosporidium* Oozysten-Antigens in menschlichen Stuhlproben. Er dient als Hilfsmittel bei der Diagnose von Diarrhoe-Patienten mit Verdacht auf eine Magen-Darm-Infektion mit *Cryptosporidium*.

Achtung: Gemäß US-Bundesgesetz ist der Verkauf dieses Produkts an Ärzte bzw. auf Anordnung eines Arztes beschränkt.

ERLÄUTERUNG

Cryptosporidium spp. ist ein protozoischer Parasit von Vertebraten, von dem man früher annahm, dass er nur bei Tieren Diarrhoe auslöst (1). Im Jahre 1976 wurde die erste menschliche Infektion berichtet (2). Seitdem hat man festgestellt, dass der Erreger in den meisten Teilen der Welt mit Durchfallerkrankungen assoziiert ist und eine häufige Ursache der Reisediarrhoe darstellt (1,3).

Die Erkrankung wird durch die dickwandige Oozystenform übertragen, die einen Durchmesser von 2-6 µm aufweist und erstaunlich resistent gegen übliche Desinfektionsmittel und routinemäßige Chlorierung des Trinkwassers ist. Die Übertragung von Mensch zu Mensch, besonders bei Kindern, ist weit verbreitet (4). *Cryptosporidium* weist eine geringe oder gar keine Wirtsspezifität auf, und Tiere wie Nager, Vieh und Haustiere fungieren als Träger für die zoonotische Übertragung auf den Menschen (1,5). Diese Übertragung geschieht entweder durch direkten Kontakt oder durch Kontaminierung des Wassers mit Fäkalien (1,6-8). Kryptosporidiose ist eine schwere, opportunistische Infektion bei Patienten mit erworbenem Immunschwächesyndrom (AIDS) und wird potenziell sexuell übertragen (6,9). Klinische Manifestationen der Kryptosporidiose sind choleraartige Diarrhoe, Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen und Gewichtsverlust. Bei Gesunden ist die Infektion in der Regel von kurzer Dauer und selbstlimitierend. Bei AIDS-Patienten und anderen immunsupprimierten Personen kann Kryptosporidiose zu einer langwierigen und aufgrund des übermäßigen Flüssigkeitsverlustes lebensbedrohlichen Erkrankung werden. Bei diesen Patienten kann sich die Infektion auch auf die Atem- und Gallenwege ausbreiten (6).

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Beim *CRYPTOSPORIDIUM II*™-Test werden monoklonale und polyklonale Antikörper gegen *Cryptosporidium* Oozysten-Antigen eingesetzt. Die *Mikrotiterplatte* des Sets enthält einen immobilisierten monoklonalen Antikörper gegen das *Cryptosporidium* Oozysten-Antigen, und das *Konjugat* besteht aus einem polyklonalen Antikörper gegen das *Cryptosporidium* Oozysten-Antigen. Bei dem Test wird ein Aliquot einer verdünnten Stuhlprobe in eine Vertiefung der Mikrotiterplatte übertragen. Ist das *Cryptosporidium* Oozysten-Antigen vorhanden, so bindet es an den immobilisierten monoklonalen Antikörper. Wenn das *Konjugat* zugegeben wird, bindet es an den Komplex aus Antigen und Antikörper. Nicht gebundenes Material wird während der Waschschrte entfernt. Nach der Zugabe von Substrat wird aufgrund der Enzym-Antikörper-Antigen-Komplexe, die sich in Gegenwart von *Cryptosporidium* Oozysten-Antigen und *Konjugat* gebildet haben, eine Färbung nachgewiesen.

PACKUNGSGEHALT

[CONJ] [ENZ] *Konjugat*, 7 ml (an Meerrettich-Peroxidase gebundener polyklonaler Kaninchen-Antikörper gegen ein *Cryptosporidium* Oozysten-Antigen in einer gepufferten Proteinlösung mit 0,02 % Thimerosal)*

[DIL] [SPE] *Verdünnungspuffer*, 50 ml (gepufferte Proteinlösung mit 0,02 % Thimerosal)*. Der *Verdünnungspuffer* wird auch als negative Kontrolllösung verwendet (siehe TESTVERFAHREN).

H₂SO₄ 0,6N **Stopplösung**, 7 ml (0,6 N Schwefelsäure). Vorsicht: Kontakt mit der Haut vermeiden. Bei Kontakt sofort mit Wasser abspülen.

Signalwort: Gefahr

H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.



P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353, P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501

CONTROL **+** **Positive Kontrolle**, 3,5 ml (Hitze-inaktiviertes fäkales Material vom Rind mit *Cryptosporidium* Oozysten-Antigen in einer gepufferten Proteinlösung mit 0,02 % Thimerosal)*.

SUBS **REAG** **Substrat**, 14 ml (Lösung aus Tetramethylbenzidin und Peroxid).

WASHBUF **20X** **Waschpuffer-Konzentrat**, 50 ml (20X-Konzentrat mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung, Detergenz und 0,02 % Thimerosal)*.

Signalwort: Warnung

H373: Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition

H411: Giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.



P260, P273, P314, P391, P501

MA **PLT** **Mikrotiterplatte**, 12 Streifen mit je 8 Vertiefungen, die mit monoklonalem Antikörper gegen *Cryptosporidium* Oozysten-Antigen beschichtet sind (mit Trockenmittel gelagert).

2 Kunststoff-Klebebögen

100 Einweg-Messpipetten

*enthält Quecksilber



BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

Spritzflasche für das Waschreagenz

950 ml destilliertes Wasser zur Verdünnung des Waschreagenz

Mikrozentrifugenröhrchen

ELISA-Lesegerät für eine Wellenlänge von 450 nm oder 450/620 nm

Applikatorstäbchen

Vortex-Schüttler

Abfallbehälter

Saugpapier

VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Rx Only - Verschreibungspflichtig
2. *In-vitro*-Diagnostikum. Nur für den professionellen Gebrauch.
3. Reagenzien aus verschiedenen Sets nicht mischen. Verwenden Sie das Test-Set nicht nach Ablauf des jeweiligen Verfallsdatums.
4. Die Reagenzien müssen vor dem Gebrauch Zimmertemperatur annehmen.
5. Verschlüsse und Spitzen sind farbkodiert; nicht vertauschen.
6. Alle Bestandteile des Sets müssen auf Anzeichen auf Undichtigkeit untersucht werden. Bei Erhalt des Sets muss sichergestellt werden, dass die Komponenten nicht wegen unsachgemäßer Transportbedingungen gefroren oder zu warm sind.
7. Vermeiden Sie beim Umgang mit Testvertiefungen, diese zu verkratzen, da dies zu erhöhten Absorptionsmesswerten führen kann.
8. Halten Sie die Tropfflaschen beim Dispensieren senkrecht, um die richtige Tropfengröße sicherzustellen.
9. Nicht verwendete Vertiefungen der Mikrotiterplatte müssen sofort mit Trockenmittel zurück in den wiederverschließbaren Beutel gegeben und verschlossen werden, damit sie vor Feuchtigkeit geschützt sind.
10. Führen Sie das Waschverfahren nach Anweisung durch, um starke Hintergrundreaktionen zu vermeiden.
11. Das **Substrat** ist lichtempfindlich und muss vor direktem Sonnenlicht und UV-Quellen geschützt werden. Wenn das **Substrat** Licht ausgesetzt wird und eine Färbung entwickelt, muss es entsorgt werden.

12. Optimale Ergebnisse werden erzielt, wenn das angegebene Testverfahren befolgt wird. Die Konzentrationen, Inkubationsbedingungen und Verfahrensdetails wurden in Bezug auf Sensitivität und Spezifität optimiert. Abweichungen vom angegebenen Verfahren und/oder Änderungen der Testbedingungen können die Sensitivität und Spezifität des Tests beeinflussen.
13. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien kann die Genauigkeit des Tests beeinträchtigen. Vermeiden Sie mikrobielle Kontaminationen der Reagenzien mithilfe der Verwendung steriler Einweg-Pipetten für die Reagenzienentnahme aus den Flaschen.
14. Behandeln Sie die Proben und gebrauchten Kavitäten als infektiöses Material. Tragen Sie während der Durchführung des Tests Einweghandschuhe.
15. Das 20-fache *Waschpufferkonzentrat* enthält 0,2 % Thimerosal als Konservierungsmittel. Sobald sie auf normale Gebrauchskonzentration verdünnt ist, wird diese Lösung als ungefährlich eingestuft. Die *Stopplösung* enthält 0,6 N Schwefelsäure. Bei Kontakt sofort mit Wasser abspülen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Reagenzien gemäß vorhandenen Vorschriften für die Laborsicherheit und gute Laborpraxis behandeln. Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Nachfrage erhältlich. Wenden Sie sich an den technischen Support.
16. Befolgen Sie Ihre nationalen, regionalen und lokalen Verordnungen in Bezug auf die Abfallentsorgung. Nicht zum Hausmüll geben, als gefährlichen Abfall entsorgen.

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum dieses Test-Sets ist auf dem Verpackungsetikett angegeben. Das jeweilige Verfallsdatum für die einzelnen Bestandteile ist auf den entsprechenden Etiketten angegeben. Das Set muss zwischen 2° C und 8° C gelagert und nach dem Gebrauch so schnell wie möglich wieder in den Kühlschrank gestellt werden.

HANDHABUNG DER PROBEN

1. Die üblichen Labormethoden für die Entnahme und Handhabung von Stuhlproben für Kulturen sind geeignet. Die Entnahmemethoden für die zur Untersuchung von Eiern und Parasiten üblichen Mikroskopieverfahren können unverändert übernommen werden.
2. Stuhlproben können ohne Konservierung, gefroren oder in 10 % gepuffertem Formalin oder Natriumacetat-Formalin (NAF) als Konservierungsmedium oder aus Transportmedien wie Cary Blair und C&S verwendet werden.
3. Nicht konservierte Proben müssen zwischen 2° C und 8° C gelagert und innerhalb von 24 Stunden nach der Entnahme getestet werden. Proben, die nicht innerhalb dieser Zeit getestet werden können, müssen bis zum Test bei mindestens -20° C eingefroren werden.
4. Konservierte Proben können bei Zimmertemperatur gelagert und innerhalb von 18 Monaten nach der Entnahme getestet werden.
5. Konzentrationsschritte sind für Stuhlproben nicht erforderlich (und nicht empfehlenswert).
6. Stellen Sie sicher, dass die Proben vor der Testdurchführung gründlich gemischt werden (Vortexen). Insbesondere müssen sie vor der Übertragung in den *Verdünnungspuffer* und/oder die Vertiefung der Mikrotiterplatte vollständig gemischt werden.
7. Alle Probenverdünnungen müssen mit dem *Verdünnungspuffer* vorgenommen werden.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

1. Der Inhalt des Sets muss vor dem Gebrauch Zimmertemperatur annehmen.
2. Bereiten Sie 1X-*Waschlösung* zu. Das *Waschpuffer-Konzentrat* wird als 20X-Konzentrat geliefert (möglicherweise ist ein Präzipitat sichtbar). Verdünnen Sie es auf ein Gesamtvolumen von 1 Liter, indem Sie 50 ml Konzentrat zu 950 ml destilliertem Wasser hinzufügen. Die 1X-*Waschlösung* kann zwischen 2° C und 8° C gelagert werden.

3. Mit Ausnahme des *Waschpuffer-Konzentrats* werden alle Reagenzien in gebrauchsfertigen Flaschen geliefert. Die Reagenzien können direkt aus den Tropfflaschen dispensiert oder für Mehrkanalpipetten dekantiert werden. Wenn überschüssiges Reagenz dekantiert wird, muss der Überschuss entsorgt werden. Nicht zurück in die Flasche gießen. Das *Substrat* muss in der lichtgeschützten Flasche, in der es geliefert wurde, gelagert und direkt aus dieser verwendet werden. Wenn aus der Originalflasche aus irgendeinem Grund ein Aliquot entnommen wurde, darf nicht verwendetes *Substrat* nicht wieder zurück in die Originalflasche gegeben werden.

VORBEREITUNG DER PROBEN

1. Frische/Gefrorene Stuhlproben: Gefrorene Stuhlproben müssen aufgetaut werden. Geben Sie 400 µl *Verdünnungspuffer* in ein Mikrozentrifugenröhrchen (ein Röhrchen pro Probe), und fügen Sie dann 100 µl (2. Skalenstrich auf der Pipette) der Stuhlprobe hinzu. Gut mischen. Wenn die Probe nicht pipettiert werden kann, übertragen Sie etwa 0,1 Gramm Stuhl mit einem Applikatorstäbchen. Dies entspricht etwa der Größe einer kleinen Erbse (Durchmesser ca. 4 mm).
2. Konservierte Stuhlproben: Mischen (vortexen) Sie den Behälterinhalt gründlich, bevor Sie die Probe übertragen. Eine weitere Verarbeitung oder Verdünnung ist nicht erforderlich.

TESTVERFAHREN

1. Bereiten Sie bei jedem Testdurchgang zwei Kontrollvertiefungen für die positiven und negativen Kontrollen vor. Für die positive Kontrolle schütteln Sie das Fläschchen mit der *positiven Cryptosporidium-Kontrolle* (weißer Verschluss) einige Sekunden lang und geben dann einen Tropfen (50 µL) in die Vertiefung für die positive Kontrolle. Hierauf geben Sie 2 Tropfen (100 µL) *Verdünnungspuffer* in die Vertiefung für die negative Kontrolle.
2. Falls Sie frische oder gefrorene (d.h. nicht konservierte) Proben verwenden, nehmen Sie eine Verdünnung vor, wie oben unter VORBEREITUNG DER PROBEN beschrieben.
3. Übertragen Sie 100 µL *Verdünnungspuffer* in jede Testvertiefung der *Mikrotiterplatte*. Übertragen Sie mit Kunststoffpipetten 1 Tropfen (50 µL, 1. Skalenstrich auf der Pipette) Probe (konserviert oder verdünnt wie oben) in jede Testvertiefung, die bereits *Verdünnungspuffer* enthält, und klopfen Sie zum Mischen sanft gegen die Vertiefungen. Verschließen Sie die Platte mit einem Kunststoff-Klebebogen und inkubieren Sie 1 Stunde lang bei Raumtemperatur.
4. Schütteln Sie den Inhalt der Testvertiefungen in eine Abfallschale aus. Waschen Sie jede Vertiefung mit der 1X-*Waschlösung* aus einer Spritzflasche mit feiner Düse, indem Sie die *Waschlösung* jeweils kraftvoll auf den Boden der Vertiefung richten. Füllen Sie die Vertiefungen, schütteln Sie die *Waschlösung* aus den Vertiefungen in eine Abfallschale und schlagen Sie die Platte kräftig gegen ein trockenes Papiertuch. Wiederholen Sie diesen Schritt 4 Mal (insgesamt 5 Waschvorgänge). Falls noch Stuhlmateriale in den Vertiefungen zurückgeblieben ist, waschen Sie die Platte, bis sie sauber ist. (Unter www.techlab.com finden Sie weitere Informationen zum Waschen von ELISA-Vertiefungen).
5. Entfernen Sie nach dem Waschen vollständig alle Flüssigkeitsreste aus den Vertiefungen, indem Sie die Platte auf einem trockenen Papiertuch ausschlagen, bis keine Flüssigkeit mehr austritt. Entsorgen Sie die Papiertücher und Probengefäße ordnungsgemäß.
6. Geben Sie in jede Vertiefung 1 Tropfen (50 µL) *Konjugat* (roter Verschluss), und klopfen Sie zum Mischen sanft dagegen. Verschließen Sie alles mit einem Kunststoff-Klebebogen. Inkubieren Sie die Vertiefungen 30 Minuten lang bei Raumtemperatur.
7. Wiederholen Sie das Waschverfahren (Schritte 4 und 5).
8. Geben Sie 2 Tropfen (100 µL) *Substrat* (blauer Verschluss) in jede Vertiefung. Klopfen Sie zum Mischen sanft gegen die Vertiefungen. Inkubieren Sie die Vertiefungen 10 Minuten lang bei Raumtemperatur.

- Geben Sie 1 Tropfen (50 µL) *Stopplösung* (gelber Verschluss) in jede Vertiefung. Klopfen Sie zum Mischen sanft gegen die Vertiefungen, und warten Sie bis zum Ablesen 2 Minuten. Durch Zugabe der *Stopplösung* wandelt sich die blaue Färbung in eine gelbe Färbung um. Dieser Effekt kann quantifiziert werden, indem die Absorption bei 450 nm mit einem ELISA-Mikrotiterplatten-Lesegerät gemessen wird. Für das Instrument muss der Leerwert gegen Luft festgestellt werden. Wischen Sie vor Messung der Absorption die Unterseite jeder Vertiefung ab. Wenn Sie ein Lesegerät für zwei Wellenlängen benutzen, messen Sie den Leerwert bei 620 nm, und lesen Sie bei 450 nm ab. Visuelle Ablesergebnisse müssen notiert werden. Nehmen Sie das Ablesen innerhalb von zehn Minuten nach Zugabe der *Stopplösung* vor.

QUALITÄTSKONTROLLE

- Bei jeder Testprobenserie müssen eine positive und negative Kontrolle mitgetestet werden. Die positive Kontrolle zeigt, dass der Test ordnungsgemäß für den Nachweis von *Cryptosporidium* Oozysten-Antigen in menschlichen Stuhlproben funktioniert. Die negative Kontrolle zeigt, dass der Test spezifisch reagiert.
- Jede positive Kontrolle sollte eine gut sichtbare gelbe Färbung und eine Absorption von mindestens 0,500 ergeben. Vertiefungen, die einen positiven Messwert, aber keine sichtbare Färbung ergeben, müssen neu positioniert, an der Unterseite abgewischt und nochmals abgelesen werden.
- Die negativen Kontrollen sollten keine oder nur eine schwache Färbung aufweisen. Ihr Absorptionswert muss $< 0,150$ bei Messung bei einer einzelnen Wellenlänge (OD_{450nm}) bzw. $< 0,090$ bei Messung bei zwei Wellenlängen ($OD_{450/620nm}$) betragen.
- Die Testergebnisse sind nur dann gültig, wenn die Leistungsdaten der positiven und negativen Kontrollen erfüllt sind. Wenden Sie sich an den technischen Kundendienst, wenn Sie diese Ergebnisse nicht erhalten.
- Die Testergebnisse müssen zusammen mit den Absorptionswerten gemäß der Verfahrensweise des Labors aufgezeichnet und berichtet sowie für den späteren Gebrauch archiviert werden.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Absorption		Sichtbare Farbe	Interpretation
450 nm	450/620 nm		
$< 0,150$	$< 0,090$	Farblos bis schwach gelb	Negativ – kein Antigen nachgewiesen. Unter der Nachweisgrenze des Tests.
$\geq 0,150$	$\geq 0,090$	Blassgelb bis kräftig gelb	Positiv – Probe enthält <i>Cryptosporidium</i> -Antigen

Visuelle Interpretation

- Negativ:** Jede Probe, die keine Färbung oder eine Färbung von der gleichen Intensität wie die negative Kontrolle aufweist. Es wurde kein Antigen nachgewiesen. Unter der Nachweisgrenze des Tests.
- Positiv:** Jede Probe, die ein deutlich intensiveres Gelb als die negative Kontrolle aufweist. Probe enthält *Cryptosporidium*-Antigen.

BITTE BEACHTEN: Die negative Kontrolle kann ebenso wie auch einige Testvertiefungen eine schwach gelbe Färbung aufweisen. Ein Ergebnis kann nur dann als positiv betrachtet werden, wenn das Gelb deutlich intensiver als bei der negativen Kontrolle ist.

Spektrophotometrische Interpretation

- Bestimmen Sie den Absorptionswert der negativen Kontrolle. Der Messwert der negativen Kontrolle muss $< 0,150$ OD 450 bzw. $< 0,090$ OD 450/620 betragen. Andernfalls ist der Test ungültig und muss unter besonderer Beachtung des Waschverfahrens wiederholt werden.

- 2. Der Messwert für die *positive Kontrolle* muss $\geq 0,500$ betragen.
- 3. Testergebnisse
 - Negativ:** $< 0,150$ (Absorption bei 450 nm) oder $< 0,090$ (Absorption bei 450/620 nm).
Es wurde kein Antigen nachgewiesen. Unter der Nachweisgrenze des Tests.
 - Positiv:** $\geq 0,150$ (Absorption bei 450 nm) oder $\geq 0,090$ (Absorption bei 450/620 nm).
Probe enthält *Cryptosporidium*-Antigen.

GRENZEN DES VERFAHRENS

- 1. Der *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Test weist *Cryptosporidium* Oozysten-Antigen in Stuhlproben nach.
- 2. Die Testergebnisse müssen im Zusammenhang mit weiteren Laboreergebnissen und der Krankengeschichte von einem Arzt interpretiert werden.
- 3. Konzentrierte Stuhlproben dürfen nicht mit dem *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Test getestet werden; sie liefern keine richtigen Ergebnisse.
- 4. Der *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Test ist für den qualitativen Nachweis von *Cryptosporidium* Oozysten-Antigen in menschlichen Stuhlproben bestimmt. Er wurde nicht für eine quantitative Bestimmung der Organismenmenge evaluiert, und es ist keine Korrelation der Größe des Absorptionswerts mit der Organismenmenge vorgesehen.

LEISTUNGSDATEN

Der *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Test wurde von einem unabhängigen Diagnoselabor auf seine Fähigkeit geprüft, *Cryptosporidium*-Antigene in konservierten Stuhlproben nachzuweisen. Von den 185 mikroskopisch analysierten Proben waren 44 *Cryptosporidium*-positiv. Anschließend wurde jede Probe mit dem *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Test getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1. Vergleich des *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Tests mit Mikroskopie für den Nachweis von *Cryptosporidium*.

Proben gesamt (n = 185)		Mikroskopie	
		Positiv	Negativ
<i>CRYPTOSPORIDIUM II</i> TM	Positiv	43	0
	Negativ	1	141

		95% CI
Sensitivität	97,7%	86,5% - 99,9%
Spezifität	100%	96,7% - 100%
Vorausgesagter Positiver Wert	100%	89,8% - 100%
Vorausgesagter Negativer Wert	99,3%	95,6% - 99,9%
Korrelation	99,5%	99,3% - 99,6%

KREUZREAKTIVITÄT

Der *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Test wurde von einem unabhängigen Diagnoselabor anhand von Stuhlproben evaluiert, die sich als positiv für eine Reihe von darmpathogenen Erregern erwiesen. Es wurde keine Kreuzreaktivität für Stuhlproben beobachtet, die eines der unten genannten Pathogene enthielten. Die Anzahl der mit dem jeweiligen Organismus getesteten Proben ist in Klammern angegeben.

<i>Ascaris lumbricoides</i> eggs (5)	<i>Blastocystis hominis</i> (35)	<i>Chilomastix mesnili</i> (1)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (2)	<i>Dientamoeba fragilis</i> (23)	<i>Diphyllobothrium latum</i> eggs (1)
<i>Endolimax nana</i> (37)	<i>Entamoeba coli</i> (22)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (3)
<i>Entamoeba histolytica</i> /E. dispar (7)		<i>Enterobius vermicularis</i> eggs (4)
<i>Giardia lamblia</i> (40)	Hookworm eggs (1)	<i>Hymenolepis nana</i> eggs (4)
<i>Iodamoeba bütschlii</i> (4)	<i>Strongyloides stercoralis</i> larvae (3)	
<i>Taenia</i> spp. eggs (1)	<i>Trichuris trichiura</i> eggs (2)	

Der *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Test wurde auf Kreuzreaktivität mit den unten genannten Bakterien- und Virenstämmen geprüft. Keiner dieser Stämme zeigte eine Kreuzreaktivität mit dem *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Test.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Campylobacter coli</i>	<i>Campylobacter fetus</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157H7	
<i>Escherichia coli</i> EIEC (enteroinvasive)		
<i>Escherichia coli</i> EPEC (enteropathogenic)		
<i>Escherichia coli</i> ETEC (enterotoxigenic)		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Adenovirus types 1, 2, 3, 5, 40, 41		Coxsackievirus B2, B3, B4, B5
Echovirus 9, 11, 18, 22, 33		Enterovirus types 68, 69, 70, 71
Human coronavirus		

INTERFERENZSUBSTANZEN

Die folgenden Substanzen hatten in den angegebenen Konzentrationen keinen Einfluss auf die positiven oder negativen Testergebnisse: Mucin (3,5 % w/v), humanes Blut (40 % w/v), Imodium[®] (5 % w/v), Kaopectate[®] (5 mg/ml), Pepto-Bismol[®] (5 % w/v), Fäkal Fett (Stearinsäure 40% w/v), Metronidazol (0,25 % w/v), Vancomycin (0,25 % w/v).

KOMPATIBILITÄT ZWISCHEN PROBE UND KONSERVIERUNGSMITTEL

Der *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Test wurde intern auf seine Kompatibilität mit konservierten Stuhlproben untersucht. Bei Stuhlproben, die in 10 % gepuffertem Formalin oder Natriumacetat-Formalin (NAF) konserviert sind, oder Stuhlproben aus Transportmedien wie Cary Blair und C&S wurde keine Beeinträchtigung der Sensitivität oder Spezifität festgestellt.

INTRA-ASSAY-PRÄZISION

Durch Analyse von vier *Cryptosporidium*-positiven Stuhlproben und vier *Cryptosporidium*-negativen Stuhlproben wurde der prozentuale Intra-Assay-Variationskoeffizient (VK) für den *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Test bestimmt. Jede Probe wurde in acht Testvertiefungen getestet. Der durchschnittliche prozentuale VK für positive Proben betrug 4,91. Der durchschnittliche prozentuale VK für negative Proben betrug 2,71.

INTER-ASSAY-PRÄZISION

Durch Analyse von vier *Cryptosporidium*-positiven Stuhlproben und vier *Cryptosporidium*-negativen Stuhlproben wurde der prozentuale Inter-Assay-Variationskoeffizient (VK) für den *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Test bestimmt. Jede Probe wurde mit dem *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Set in fünf unabhängigen Testdurchgängen über einen Zeitraum von 4 Tagen getestet. Der durchschnittliche prozentuale VK für positive Proben betrug 18,14. Der durchschnittliche prozentuale VK für negative Proben betrug 2,51.

ERWARTUNGSWERTE

Normale, gesunde Personen sollten nicht mit *Cryptosporidium* infiziert sein und im *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Test negative Werte liefern. Ein positives Ergebnis mit dem *CRYPTOSPORIDIUM II*TM-Test weist darauf hin, dass die Person nachweisbare Mengen von *Cryptosporidium* Oozysten-Antigen ausschüttet. Die Häufigkeit von *Cryptosporidium*-Infektionen variiert beträchtlich je nach Population und geografischer Region. Allgemein liegt die durch Laboruntersuchungen belegte Häufigkeit von Kryptosporidiose in entwickelten Ländern insgesamt zwischen 1 % und 2 %, mit einer größeren Häufigkeit bei Kindern (10).

CRYPTOSPORIDIUM II™ - FRANÇAIS

UTILISATION PRÉVUE

Le test *CRYPTOSPORIDIUM II*™ est une analyse immuno-enzymatique pour le dépistage qualitatif de l'antigène des oocystes de *Cryptosporidium* dans les échantillons de selles humaines. Il est indiqué pour déterminer l'éventuelle présence d'une infection gastro-intestinale due au *Cryptosporidium* chez les patients diarrhéiques.

Attention: la loi fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux médecins ou sur prescription médicale.

EXPLICATION

On considérait autrefois que le *Cryptosporidium* spp. —parasite protozoaire des vertébrés— ne provoquait de diarrhées que chez les animaux (1). La première infection humaine a été signalée en 1976 (2). Depuis lors, le *Cryptosporidium* a été associé au syndrome diarrhéique dans la plupart des régions du monde, s'avérant fréquemment responsable de la diarrhée du voyageur (1,3).

La maladie est transmise par l'oocyste à paroi épaisse (2-6 µm de diamètre), remarquablement résistant aux désinfectants courants et à la chloration de l'eau destinée à la consommation. La transmission d'une personne à une autre est commune, en particulier chez les enfants (4). Le *Cryptosporidium* a peu, voire aucun hôte spécifique; les animaux —tels que les rongeurs, le bétail et les animaux de compagnie— sont de simples porteurs responsables de la transmission zoonotique à l'homme (1,5), celle-ci se produisant soit par contact direct, soit par contamination fécale des points d'eau (1,6-8). La cryptosporidie est une infection opportuniste sérieuse pour les personnes atteintes du SIDA (syndrome d'immunodéficience acquise) ; elle est d'ailleurs recensée parmi les maladies potentiellement transmissibles par voie sexuelle (6,9). Les manifestations cliniques de la cryptosporidie sont les suivantes : diarrhées aiguës (semblables à celles que provoque le choléra), douleurs abdominales, nausées, vomissements et perte de poids. Chez les personnes en bonne santé, l'infection est généralement limitée et de courte durée. Chez les personnes atteintes du SIDA ou de tout autre syndrome immunodéficitaire, la cryptosporidie peut entraîner une affection prolongée, voire mortelle, suite à une forte perte de liquides. Chez ces patients, l'infection peut par ailleurs se propager au système respiratoire et au système biliaire (6).

PRINCIPES BIOLOGIQUES

Le test *CRYPTOSPORIDIUM II*™ utilise des anticorps monoclonaux et polyclonaux dirigés contre l'antigène des oocystes de *Cryptosporidium*. Les *Microplaques de micropuits* fournies avec le kit sont enduites d'un anticorps monoclonal immobilisé contre l'antigène des oocystes de *Cryptosporidium* et le *Conjugué* se compose d'un anticorps polyclonal contre l'antigène des oocystes de *Cryptosporidium*. Lors de l'analyse, une quantité aliquote de selles diluées est introduite dans le micropuits. Si l'antigène des oocystes de *Cryptosporidium* est présent, il se lie à l'anticorps monoclonal immobilisé. Le *Conjugué* est ensuite ajouté et se lie au complexe antigène/anticorps. Tout matériel non lié est éliminé lors du processus de lavage. L'adjonction du substrat entraîne une modification de la coloration suite à la formation d'un complexe enzyme-anticorps-antigène en présence de l'antigène des oocystes de *Cryptosporidium* et du *Conjugué*.

MATÉRIEL FOURNI

CONJ ENZ

Conjugué, 7 ml (anticorps polyclonal de lapin contre l'antigène des oocystes de *Cryptosporidium* conjugué à la peroxydase de raifort dans une solution tamponnée et protéinée contenant 0,02% de thimérol)*.

DIL SPE

Diluant, 50 ml (solution tamponnée et protéinée contenant 0,02% de thimérol)*. Le *Diluant* est également utilisé comme solution de contrôle Négatif (voir PROCÉDURE DE TEST).

H₂SO₄ 0.6N **Solution d'arrêt**, 7 ml (0,6 N d'acide sulfurique). Attention : éviter tout contact avec la peau. En cas de contact, rincer immédiatement à l'eau.

Mot indicateur : Danger

H314 : Provoque de graves brûlures de la peau et des lésions oculaires

P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353, P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501



CONTROL **+** **Contrôle positif**, 3,5 ml (matières fécales d'origine bovine inactivées à la chaleur, contenant l'antigène des oocystes de *Cryptosporidium* dans une solution tamponnée et protéinée à 0,02% de thimérol)*.

SUBS **REAG** **Substrat**, 14 ml (solution contenant du tétraméthylbenzidine et du peroxyde).

WASHBUF **20X** **Tampon de lavage à concentration 20X**, 50 ml (concentré à 20X contenant un tampon salin phosphaté, un détergent et 0,2% de thimérol)*.

Mot indicateur : Avertissement

H373 : Peut endommager les organes en cas d'exposition prolongée ou répétée

H411: Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P260, P273, P314, P391, P501



MA **PLT** **Microplaque de micropuits**, 12 bandes, chacune présentant 8 micropuits enduits d'anticorps monoclonal contre l'antigène des oocystes de *Cryptosporidium* (sous emballage contenant un produit dessiccant).

2 films adhésifs

100 pipettes graduées jetables

*contient du mercure



MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

Pulvérisateur pour le réactif de lavage

950 ml d'eau distillée pour diluer le réactif de lavage

Papier absorbant

Lecteur ELISA capable d'effectuer une lecture à 450 nm ou à 450/620 nm

Écouvillons

Agitateur vortex

Réceptacle à déchets

Tubes microcentrifuges

PRÉCAUTIONS À PRENDRE

1. Rx Only - Sur ordonnance uniquement
2. Pour une utilisation diagnostique *in vitro*. Uniquement à usage professionnel.
3. Les réactifs des différents kits ne doivent pas être mélangés. Ne pas utiliser le kit si sa date de péremption est dépassée.
4. Les réactifs doivent être à température ambiante avant utilisation.
5. Les capsules et les embouts sont classés par couleur. Ne pas les mélanger.
6. Contrôler tous les éléments du kit afin de vérifier qu'ils ne présentent aucun signe de fuite. Examiner le kit dès réception afin de vérifier que les éléments ne sont ni glacés ni chauds au toucher en raison de conditions de transports inadéquates.
7. Lors des manipulations, éviter d'effleurer le fond des micropuits, toute dégradation pouvant entraîner une lecture élevée de l'absorbance.
8. Tenir les compte-gouttes en position verticale de façon à dispenser des gouttes de taille adéquate.
9. Les microplaques de micropuits non utilisées doivent immédiatement être réintroduites dans leur emballage refermable contenant un produit dessiccant, cet emballage devant être hermétiquement refermé afin de les protéger de l'humidité.
10. Le lavage doit être réalisé suivant les consignes indiquées afin d'éviter toute réaction hors essai.
11. Le *Substrat* est photosensible et ne doit pas être directement exposé à la lumière solaire ou à une source de rayons UV. Si une coloration apparaît suite à une exposition du *Substrat* à la lumière, celui-ci doit être éliminé.

12. Les meilleurs résultats sont obtenus si la procédure de test spécifiée est respectée. Les concentrations, les conditions d'incubation et les spécifications de traitement ont été optimisées de façon à rendre le test sensible et spécifique. Toute modification de la procédure spécifiée et/ou des conditions de test peut altérer la sensibilité et la spécificité du test.
13. La contamination microbienne des réactifs peut réduire l'exactitude de l'analyse. Éviter la contamination microbienne des réactifs en utilisant des pipettes stériles jetables pour extraire les aliquots des flacons à réactifs.
14. Manipuler les échantillons et micropuits utilisés comme tout facteur potentiel de transmission d'agents infectieux. S'équiper de gants jetables pendant le test.
15. Le *Tampon de lavage concentré 20X* contient du Thimérosal 0,2 % comme conservateur. Une fois diluée à une concentration normale d'utilisation, cette solution est classée comme non dangereuse. La *Solution d'arrêt* contient 0,6 N d'acide sulfurique. En cas de contact, rincer immédiatement à l'eau. Les vêtements contaminés doivent être ôtés puis lavés avant d'être réutilisés. Manipuler les réactifs selon les réglementations existantes relatives à la sécurité des laboratoires et les bonnes pratiques de laboratoire. Les fiches de sécurité de ce produit sont disponibles à la demande. Contacter le support technique.
16. Respecter les arrêtés locaux, régionaux et nationaux relatifs aux réglementations sur l'élimination des déchets. Ne pas les jeter avec les déchets ménagers mais avec les matières dangereuses.

DURÉE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date de péremption du kit est indiquée sur l'emballage. La date de péremption de chaque composant est indiquée sur l'étiquette figurant sur chacun d'entre eux. Le kit doit être stocké à une température comprise entre 2 et 8 °C et remis au réfrigérateur aussitôt que possible après utilisation.

MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS

1. Les méthodes internes standard de prélèvement et de manipulation des échantillons de selles sont considérées appropriées. Il n'est donc pas nécessaire de modifier les méthodes de prélèvement normalement appliquées pour les examens microscopiques O&P.
2. Les échantillons de selles peuvent être utilisés non conditionnés, congelés, introduits dans une solution de formol tamponnée à 10%, dans une solution SAF (Sodium-Acétate-Formol) ou dans un milieu de transport tel qu'un Cary Blair ou un C&S.
3. Les échantillons non conditionnés doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C et analysés dans les 24 heures suivant le prélèvement. Les échantillons ne pouvant être analysés dans ce délai devront être congelés à -20 °C ou à une température inférieure.
4. Les échantillons conditionnés peuvent être entreposés à température ambiante et testés dans les 18 mois suivant le prélèvement.
5. Il n'est pas nécessaire (ni recommandé) de concentrer les échantillons de selles.
6. Veiller à ce que les échantillons soient bien mélangés (mixés) avant de réaliser l'analyse. Ce qui signifie que l'échantillon doit être complètement mélangé avant de l'introduire dans le *Diluant* et/ou dans le micropuits.
7. La dilution des échantillons doit être effectuée avec le *Diluant*.

PRÉPARATION DU RÉACTIF

1. Le contenu du kit doit être à température ambiante avant utilisation.
2. Préparer la *Solution de lavage* à 1X. Le *Tampon de lavage* est fourni sous forme de concentré à 20X (un précipité peut être observé). Verser 50 ml de concentré dans 950 ml d'eau distillée pour obtenir un volume total d'un litre. La *Solution de lavage* à 1X peut être entreposée à une température comprise entre 2 et 8 °C.

3. Tous les réactifs, excepté le *Tampon de lavage concentré*, sont fournis dans des flacons prêts à l'emploi. Les réactifs peuvent être dispensés directement à l'aide des compte-gouttes ; ils peuvent également être transvasés puis dispensés à l'aide de pipettes multicanaux. Après transvasement, tout surplus de réactif devra être éliminé. Ne pas réintroduire dans le flacon original. Le *Substrat* doit être maintenu dans son récipient opaque d'origine et extrait de ce récipient suivant besoin. Après extraction, le *Substrat* inutilisé ne doit pas être réintroduit dans son récipient d'origine.

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

1. Échantillons frais ou congelés : les échantillons congelés doivent être décongelés. Verser 400 µl de *Diluant* dans le tube microcentrifuge (un tube par échantillon), ajouter 100 µl d'échantillon dans le tube (2^e marque sur la pipette graduée) puis mélanger soigneusement. Si l'échantillon ne peut pas être transféré à l'aide d'une pipette, prélever environ 0,1 gramme de matière fécale à l'aide d'un écouvillon. Cette quantité équivalait plus ou moins à la taille d'un petit pois (environ 4 mm de diamètre).
2. Échantillons conditionnés : mélanger soigneusement (mixer) le contenu du récipient avant de transférer l'échantillon. Aucune préparation ou dilution supplémentaire n'est nécessaire.

PROCÉDURE DE TEST

1. À chaque essai, préparer deux micropuits de contrôle qui serviront de contrôle positif et négatif. Pour le contrôle positif, agiter la bouteille de *Contrôle positif de Cryptosporidium* (capsule blanche) pendant quelques secondes puis verser une goutte de produit (50 µL) dans le micropuits de contrôle positif et 2 gouttes (100 µL) de *Diluant* dans le micropuits de contrôle négatif.
2. Pour les échantillons frais ou congelés (c.-à-d. non conditionnés), les diluer comme indiqué au paragraphe PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS.
3. Transférer 100 µL de *Diluant* dans chaque micropuits de la *Microplaque*. À l'aide de pipettes en plastique, transférer 1 goutte d'échantillon (50 µL, 1^e marque de la pipette graduée) dans chaque micropuits contenant déjà le *Diluant* puis tapoter légèrement pour mélanger. Fermer hermétiquement à l'aide d'un film adhésif et incuber pendant 1 heure à température ambiante.
4. Secouer le contenu hors des micropuits dans un réceptacle à déchets. Nettoyer les micropuits en projetant énergiquement la *Solution de lavage* à 1X à l'aide d'un pulvérisateur à jet continu vers le fond de chaque micropuits. Remplir les micropuits, secouer la *Solution de lavage* hors des micropuits dans un réceptacle à déchets et rabattre énergiquement la plaque sur une serviette en papier sèche. Renouveler l'opération 4 fois supplémentaires (5 lavages au total). S'il reste encore des particules de matière fécale dans les micropuits, laver la plaque jusqu'à ce qu'elle soit parfaitement propre (pour de plus amples renseignements concernant le lavage des micropuits ELISA, se reporter à www.techlab.com).
5. Après lavage, éliminer complètement tout liquide résiduel pouvant rester dans les micropuits en rabattant énergiquement la plaque sur une serviette en papier sèche de façon à expulser toute trace de liquide. Éliminer les serviettes en papier et les récipients ayant contenu des échantillons de façon appropriée.
6. Verser 1 goutte (50 µL) de *Conjugué* (capsule rouge) dans chaque micropuits et tapoter légèrement pour mélanger. Fermer hermétiquement à l'aide d'un film adhésif. Laisser incuber les micropuits à température ambiante pendant 30 minutes.
7. Répéter les opérations de lavage décrites aux paragraphes 4 et 5.
8. Verser 2 gouttes (100 µL) de *Substrat* (capsule bleue) dans chaque micropuits. Tapoter légèrement pour mélanger. Laisser incuber les micropuits à température ambiante pendant 10 minutes.
9. Verser 1 goutte (50 µL) de *Solution d'arrêt* (capsule jaune) dans chaque micropuits. Tapoter légèrement pour mélanger et attendre 2 minutes avant d'effectuer la lecture. Lors de l'adjonction de la *Solution d'arrêt*, la couleur bleue vire au jaune. Cette

modification peut être quantifiée en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde de 450 nanomètres sur un lecteur de microplaques ELISA. Le zéro d'absorbance de l'instrument doit être ajusté à l'air. Essuyer le dessous de chaque micropuits avant de mesurer l'absorbance. Pour les lecteurs à double longueur d'onde, ajuster le zéro à l'air à 620 nm et effectuer la lecture à 450 nm. Consigner également les observations visuelles. Effectuer la lecture dans les dix minutes suivant l'adjonction de la *Solution d'arrêt*.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

1. Les contrôles positifs et négatifs doivent être effectués à chaque série d'analyses d'échantillons. Le contrôle positif permet de démontrer le bon fonctionnement du test de détection de l'antigène des oocystes de *Cryptosporidium* dans des échantillons de selles tandis que le contrôle négatif démontre que le test réagit de façon spécifique.
2. Chaque micropuits de contrôle positif doit présenter une couleur jaune parfaitement perceptible et doit produire une absorbance de 0,500 ou plus. Si un micropuits donne une lecture positive sans présenter une couleur parfaitement perceptible, le repositionner, essuyer le dessous du micropuits et effectuer une nouvelle lecture.
3. Les micropuits de contrôle négatifs ne doivent présenter aucune coloration ou, au plus, une légère coloration jaune inférieure à 0,150 d'absorbance mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques réglé à 450 nm de densité optique, ou inférieure à 0,090 d'absorbance mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques réglé à 450/620 nm de densité optique.
4. Les résultats des tests ne peuvent pas être considérés valides si les caractéristiques de performance des contrôles positifs et négatifs ne sont pas satisfaites. Si des résultats différents sont observés, contacter nos Services Techniques.
5. Le résultat des tests et les valeurs d'absorbance des contrôles doivent être consignés et archivés conformément aux procédures internes de l'établissement pour toute référence ultérieure.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Absorbance		Couleur visuelle	Interprétation
450 nm	450/620 nm		
< 0,150	< 0,090	Jaune clair à légèrement jaune	Négatif – L'antigène n'est pas détecté. En dessous des limites de détection de l'analyse.
≥ 0,150	≥ 0,090	Jaune pâle à jaune foncé	Positif – L'échantillon contient l'antigène du <i>Cryptosporidium</i>

Interprétation visuelle

Négatif : échantillon incolore ou présentant une intensité de couleur semblable à celle du micropuits de contrôle négatif. L'antigène n'est pas détecté. En dessous des limites de détection de l'analyse.

Positif : échantillon présentant une coloration manifestement plus jaune que le micropuits de contrôle négatif. L'échantillon contient l'antigène du *Cryptosporidium*.

REMARQUE : Tout comme certains micropuits, le contrôle négatif peut présenter une légère coloration jaune. Le micropuits contenant l'échantillon doit présenter une coloration manifestement plus jaune que le micropuits de contrôle négatif pour que le résultat soit considéré positif.

Interprétation spectrophotométrique

1. Permet de déterminer la valeur d'absorbance du contrôle négatif.

Le résultat du contrôle négatif doit être inférieur à 0,150 DO₄₅₀ ou à 0,090 DO_{450/620}.

Si ce n'est pas le cas, le test ne peut pas être considéré valide et doit être répété en veillant à effectuer correctement la procédure de lavage.

- 2. Le résultat du *Contrôle positif* doit être supérieur ou égal à 0,500.
- 3. Résultats des tests
 - Négatif** : < 0,150 (absorbance à 450 nm) ou < 0,090 (absorbance à 450/620 nm).
L'antigène n'est pas détecté. En dessous des limites de détection de l'analyse.
 - Positif** : ≥ 0,150 (absorbance à 450 nm) ou ≥ 0,090 (absorbance à 450/620 nm).
L'échantillon contient l'antigène du *Cryptosporidium*.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

- 1. Le test *CRYPTOSPORIDIUM II™* permet de détecter la présence de l'antigène des oocystes de *Cryptosporidium* dans des échantillons de selles.
- 2. Les résultats des tests doivent être interprétés par un médecin en considérant d'autres résultats de laboratoire ainsi que l'historique clinique du patient.
- 3. Le test *CRYPTOSPORIDIUM II™* ne permet pas de tester des échantillons de selles concentrés au risque d'obtenir des résultats erronés.
- 4. Le test *CRYPTOSPORIDIUM II™* permet le dépistage qualitatif de l'antigène des oocystes de *Cryptosporidium* dans des échantillons de selles. L'importance de la valeur d'absorbance n'ayant pas de corrélation avec la charge de l'organisme, la détermination quantitative de l'organisme n'a pas été évaluée.

EFFICACITÉ DU TEST

La capacité du test *CRYPTOSPORIDIUM II™* à détecter des antigènes du *Cryptosporidium* dans des échantillons de selles conditionnés a été évaluée par un laboratoire indépendant. Sur les 185 échantillons analysés par microscopie, 44 étaient *Cryptosporidium*-positifs. Chaque échantillon a ensuite été analysé à l'aide du test *CRYPTOSPORIDIUM II™*. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 1.

Tableau 1. Comparaison entre le test *CRYPTOSPORIDIUM II™* et l'analyse microscopique pour le dépistage du *Cryptosporidium*.

Échantillons totaux (n = 185)		Analyse microscopique	
		Positif	Négatif
<i>CRYPTOSPORIDIUM II™</i>	Positif	43	0
	Négatif	1	141

		95% CI
Sensibilité	97,7%	86,5% - 99,9%
Spécificité	100%	96,7% - 100%
Valeur prédictive positive	100%	89,8% - 100%
Valeur prédictive négative	99,3%	95,6% - 99,9%
Corrélation	99,5%	99,3% - 99,6%

RÉACTIVITÉ CROISÉE

Le test *CRYPTOSPORIDIUM II*TM a été évalué par un laboratoire indépendant à l'aide d'échantillons de selles avérés positifs pour une variété de microbes pathogènes intestinaux. Aucune réactivité croisée n'a été observée avec des échantillons de selles contenant un ou plusieurs des pathogènes énumérés ci-après. Le nombre d'échantillons testés pour chaque organisme est indiqué entre parenthèses.

<i>Ascaris lumbricoides</i> eggs (5)	<i>Blastocystis hominis</i> (35)	<i>Chilomastix mesnili</i> (1)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (2)	<i>Dientamoeba fragilis</i> (23)	<i>Diphyllobothrium latum</i> eggs (1)
<i>Endolimax nana</i> (37)	<i>Entamoeba coli</i> (22)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (3)
<i>Entamoeba histolytica</i> /E. dispar (7)		<i>Enterobius vermicularis</i> eggs (4)
<i>Giardia lamblia</i> (40)	Hookworm eggs (1)	<i>Hymenolepis nana</i> eggs (4)
<i>Iodamoeba bütschlii</i> (4)	<i>Strongyloides stercoralis</i> larvae (3)	
<i>Taenia</i> spp. eggs (1)	<i>Trichuris trichiura</i> eggs (2)	

La réactivité croisée du test *CRYPTOSPORIDIUM II*TM a également été évaluée avec les souches bactériennes et virales énumérées ci-après. Aucune de ces souches n'a provoqué de réactivité croisée avec le test *CRYPTOSPORIDIUM II*TM.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Campylobacter coli</i>	<i>Campylobacter fetus</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157H7	
<i>Escherichia coli</i> EIEC (enteroinvasive)		
<i>Escherichia coli</i> EPEC (enteropathogenic)		
<i>Escherichia coli</i> ETEC (enterotoxigenic)		<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Adenovirus types 1, 2, 3, 5, 40, 41		Coxsackievirus B2, B3, B4, B5
Echovirus 9, 11, 18, 22, 33		Enterovirus types 68, 69, 70, 71
Human coronavirus		

INTERFÉRENCES ANALYTIQUES

Les substances suivantes n'ont pas modifié le résultat positif ou négatif des tests aux concentrations indiquées ci-après : mucine (3,5% p/v), sang humain (40% p/v), Imodium[®] (5% p/v), Kaopectate[®] (5 mg/ml), Pepto-Bismol[®] (5% p/v), graisses fécales (acide stéarique 40% p/v), Métronidazole (0,25% p/v), Vancomycin (0,25% p/v).

COMPATIBILITÉ DES ÉCHANTILLONS CONDITIONNÉS

La compatibilité des échantillons de selles conditionnés avec le test *CRYPTOSPORIDIUM II*TM a été évaluée en interne. Aucun effet sur la sensibilité ou la spécificité du test n'a été observé avec des échantillons conservés dans une solution de formol tamponnée à 10%, dans une solution SAF (Sodium-Acétate-Formol) ou dans un milieu de transport tel qu'un Cary Blair ou un C&S.

PRÉCISION – INTRA-ANALYSE

Le pourcentage du coefficient de variation (CV) intra-analyse du test *CRYPTOSPORIDIUM II*TM a été déterminé en analysant quatre échantillons de selles *Cryptosporidium*-positifs et quatre échantillons de selles négatifs. Chaque échantillon a été analysé dans huit micropuits. Dans le cas des échantillons positifs, le pourcentage CV moyen était de 4,91. Dans le cas des échantillons négatifs, le pourcentage CV moyen était de 2,71.

PRÉCISION – INTER-ANALYSE

Le pourcentage du coefficient de variation (CV) intra-analyse du test *CRYPTOSPORIDIUM II*TM a été déterminé en analysant quatre échantillons de selles *Cryptosporidium*-positifs et quatre échantillons de selles négatifs. Chaque échantillon a été analysé en cinq phases indépendantes sur une période de quatre jours à l'aide du kit *CRYPTOSPORIDIUM II*TM. Dans le cas des échantillons positifs, le pourcentage CV moyen était de 18,14. Dans le cas des échantillons négatifs, le pourcentage CV moyen était de 2,51.

VALEURS ATTENDUES

Les individus en bonne santé ne sont normalement pas infectés par le *Cryptosporidium* et doivent obtenir un résultat négatif au test *CRYPTOSPORIDIUM II*TM. Un résultat positif au test *CRYPTOSPORIDIUM II*TM indique que l'individu sécrète une quantité détectable d'antigène des oocystes de *Cryptosporidium*. L'incidence des infections dues au *Cryptosporidium* varie de façon significative en fonction des populations et des zones géographiques. En général, d'après des études effectuées en laboratoire, l'incidence de la cryptosporidie dans les pays développés est comprise entre 1 et 2%, cette incidence étant plus élevée chez les enfants (10).

REFERENCES

1. Fayer R., and L. P. Ungar. 1986. *Cryptosporidium* spp and Cryptosporidiosis. Micro. Rev. 50:458-483.

2. Meisel, J. L., D. R. Perera, C. Meligro, and C. E. Rubin. 1976. Overwhelming watery diarrhea associated with *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. Gastroenterology 70:1156-60.

3. Sterling, C. R. 1986. *Cryptosporidium* as a causative agent of travellers' diarrhoea. J. Infect. Dis. 153:380-1.

4. Alpert, G., L. M. Bell, C. E. Kirkpatrick, L. D. Budnick, J. M. Campos, H. M. Friedman, and S. A. Plotkin. 1984. Cryptosporidiosis in a day-care centre. New Eng. J. Med. 311:860-1.

5. Pitlik, S. D., V. Fainstein, D. Garza, R. Bolivar, A. Rios, R. L. Hopfer, and P. A. Mansell. 1983. Human cryptosporidiosis: spectrum of disease (1983) Arch. Intern. Med. 143:2269-74.

6. Current, W. L. 1989. Cryptosporidiosis. In: New Strategies in Parasitology.(Ed. K. P. W. J. McAdam) Churchill Livingston pp 257-73.

7. Hayes, E. B., T. D. Matter, T. R. O'Brien, T. W. McKinley, G. S. Logsdon et al. 1989. Large community outbreak of cryptosporidiosis due to contamination of a filtered public water supply. New Eng. J. Med. 320:1372-76.

8. Badenoch, J. 1990. *Cryptosporidium* in water supplies. London H.M.S.O. pp 37-45.

9. Angus, K. W. 1990. Cryptosporidiosis and AIDS. Clinical Gastroenterol. 4:425-41.

10. Fayer, R. 1997. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, New York.

Technical Support

Further information can be obtained from contacting TECHLAB® Technical Support::

US +1 800 TECHLAB
Phone (540) 953-1664
Fax (540) 953-1665
Email ts@techlab.com

© 2023 TECHLAB, Inc. All rights reserved.

CRYPTOSPORIDIUM II, the TECHLAB Logo, and TECHLAB are trademarks of TECHLAB, Inc. All other trademarks referenced are trademarks of their respective owners.