

# RIDA<sup>®</sup> QUICK Cryptosporidium

N° art. : N1203



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Allemagne  
Tél. : +49 (0) 61 51 81 02-0 / Télécopie : +49 (0) 61 51 81 02-20



## 1. Domaine d'utilisation

Pour le diagnostic *in vitro*. Le RIDA<sup>®</sup>QUICK Cryptosporidium est un test rapide immunochromatographique pour caractériser qualitativement le *Cryptosporidium parvum* dans les échantillons de selles.

## 2. Résumé et explication du test

**Le *Cryptosporidium parvum*** est un parasite qui est très répandu chez les animaux et que l'on peut trouver comme germe pathogène également chez les animaux domestiques, en particulier les veaux. Toutefois, les infections de l'homme sont observées et sont plus fréquentes qu'autrefois. Le parasite entraîne souvent chez les enfants dans les pays tropicaux en voie de développement des diarrhées endémiques et épidémiques. Sur les patients immunocompétents, la maladie se manifeste comme gastro-entérite à auto-guérison. La diarrhée dure entre 3 et 1 à jours et peut être accompagnée de fièvre et de symptômes gastro-intestinaux, comme les nausées et les douleurs, ressemblant à ceux de la giardiase (lambliase). Les symptômes et les effets sont beaucoup plus sérieux sur les patients immunoincompétents sur lesquels les diarrhées sont graves et persistent. La transmission de l'infection de l'animal à l'homme par l'eau contaminée peut également s'effectuer de l'homme à l'homme. Les membres des collectivités, les enfants dans les jardins d'enfants et les groupes à risques des hommes homosexuels et les personnes infectées par le HIV sont particulièrement mis en danger. La méthode utilisée la plus couramment dans le passé pour diagnostiquer le *Cryptosporidium* était la justification microscopique des oocystes dans les selles ou l'examen microscopique de prélèvements de biopsie de l'intestin grêle, ce qui entraînait la présence obligatoire d'un personnel compétent. Une méthode autre méthode importante par rapport à la microscopie, pour caractériser le *Cryptosporidium parvum*, est le test rapide immunochromatographique décrit ci-dessous, dont la sensibilité et la spécificité ont la même valeur que le procédé d'examen microscopique grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux. La réalisation est simple et rapide et aucun personnel spécialement formé à la microbiologie n'est requis.

## 3. Principe du test

Le présent test rapide est un test à débit latéral immunochromatographique à un niveau, dans lequel les anticorps spécifiques dirigés contre le *Cryptosporidium* sont couplés à des particules rouges de latex. D'autres anticorps spécifiques contre l'agent pathogène sont liés de manière fixe à la membrane. Dans un premier temps, l'échantillon de selles est mis en suspension dans le tampon d'extraction puis est mis en sédimentation. Un aliquote du liquide clair du dessus du prélèvement est versé sur les bandes de test, le prélèvement passant à travers la membrane avec les particules colorées de latex, sur lesquelles – dans un cas positif - l'antigène présent se lit, et se liant à la bande collectrice spécifique.

#### 4. Contenu de l'emballage

Les réactifs d'un emballage suffisent à 20 déterminations.

|          |            |   |
|----------|------------|---|
| Cassette | 20 déterm. | 20 cassettes de test sous emballage individuel                            |
| Diluent  | 26 ml      | Tampon d'extraction, prêt à l'emploi:<br>contient 0,1 % d'azide de sodium |
| Pipet    | 25 pcs     | Sachet avec 25 pipettes à usage unique                                    |

#### 5. Les réactifs et leur stockage

Le paquet peut être entreposé à 2 – 30 °C et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Lorsque la date de péremption est atteinte, aucune garantie de qualité ne peut plus être acceptée. L'utilisation possible des cassettes ne peut plus être garantie lorsque l'emballage individuel des cassettes est altéré.

#### 6. Réactifs supplémentaires nécessaires – Accessoires requis

- Tubes à essai pour suspension de selles
- Mélangeur Vortex (en option)
- Micropipette (200 µl – 1000 µl)
- Poubelle avec une solution d'hypochlorite au sodium à 0,5 %

#### 7. Mesures de précaution

Uniquement pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test ne doit être effectué que par un personnel de laboratoire formé. Les directives concernant le travail dans des laboratoires médicaux doivent être respectées. La notice d'utilisation de réalisation du test doit être respectée rigoureusement.

Le tampon de dilution des échantillons contient de l'azide de sodium comme agent conservateur. Tout contact avec la peau ou les muqueuses doit être évité.

Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs avec la bouche, éviter tout contact sur des lésions de la peau ou sur des muqueuses. Au cours du maniement avec les échantillons, porter des gants à usage unique et à l'issue du test, se laver les mains. Ne pas fumer, manger ou boire dans les locaux dans lesquels les échantillons sont manipulés.

Tous les réactifs et les matériaux, pouvant entrer en contact avec des échantillons potentiellement infectieux, doivent être traités comme ces derniers avec des désinfectants adéquats (par ex. hypochlorite de sodium) ou être passés à l'autoclave au minimum pendant une heure à 121 °C.

## 8. Accumulation et stockage des échantillons

Les échantillons de selles doivent être collectés dans des récipients propres sans un quelconque additif et doivent être stockés à 2 – 8 °C avant le début du test. En cas de stockage de plus de 3 jours, l'échantillon doit être surgelé à –20 °C. Dans ce cas, l'échantillon est entièrement décongelé avant le début du test et est amené à température ambiante. Il faut éviter de congeler et de décongeler plusieurs fois l'échantillon.

Lorsqu'il est nécessaire d'utiliser des frottis rectaux, il faut veiller à disposer d'une quantité nécessaire de selles pour effectuer le test (env. 50 mg).

## 9. Réalisation du test

### 9.1. Généralités

Avant d'utiliser le test, les échantillons, le tampon d'extraction et les cassettes de test doivent être amenés à température ambiante (20 – 25 °C). Les cassettes de test doivent être retirées juste avant être d'utilisée de leur emballage en déchirant ce dernier. Les cassettes utilisées ne doivent pas être réutilisées. Tout rayonnement direct du soleil au cours de la réalisation du test doit être évité.

Le réactif excédentaire ne doit pas être reversé dans le récipient puisque cela pourrait entraîner une contamination.

### 9.2. Préparation des échantillons

On verse dans un tube à essai marqué 1 ml de tampon d'extraction **Diluent**. Dans le cas d'un échantillon de selles **liquides**, 100 µl sont mis en suspension avec la pipette à usage unique **Pipet** dans le tampon préparé (s'arrêter juste au-dessus du deuxième gonflement). En cas d'échantillon de selles **solides**, 50 mg sont mis en suspension dans le tampon. L'échantillon doit ensuite être bien homogénéisé. Il est nécessaire pour ce faire d'aspirer plusieurs fois et d'expulser la suspension avec la pipette à usage unique **Pipet** ou de la mélanger avec un mélangeur Vortex. La suspension homogène doit ensuite être mise en sédimentation pendant **3 minutes** au minimum jusqu'à ce qu'un liquide clair se forme au-dessus.

### 9.3. Test du prélèvement

La cassette de test retirée de l'emballage **Cassette** est posée sur une surface plane. 200 µl du liquide clair du dessus de la suspension de selles sont ensuite pipetés au moyen de la micropipette ou 4 gouttes sont pipetées avec la pipette à usage unique **Pipet** dans l'ouverture ronde de la cassette de test. Le liquide doit s'écouler dans problème à travers la membrane. Les particules éventuellement pipetées simultanément et pouvant entraver ce passage doivent être retirées au préalable. Au bout de **5 minutes**, le résultat du test peut être lu.

### 10. Contrôle de qualité – Signes d'une dénaturation du réactif

Ce test ne peut être exploité que lorsque la cassette de test est intacte **avant** d'être pipetée dans la suspension réalisée du prélèvement et lorsqu'elle ne présente aucune altération de couleur ou aucune bande de couleur sur la membrane. De plus, **à l'issue** de l'incubation test, la bande de contrôle **bleue** doit être au minimum visible. Si celle-ci n'apparaît pas, il convient de contrôler les éléments suivants avant de renouveler le test :

- Conservation des cassettes de test et du tampon d'extraction utilisé
- Réalisation correcte du test
- Contamination du tampon d'extraction

Lors du renouvellement du test avec une nouvelle cassette de test, si la bande de contrôle n'est toujours pas visible, il faut vous adresser au fabricant.

### 11. Analyse et interprétation

Au maximum deux bandes peuvent apparaître, en étant aperçues de l'endroit de prélèvement de l'échantillon et dans l'ordre suivant : une bande de réaction rouge et une bande de contrôle bleue. **Si la bande de contrôle bleue manque, le test ne peut pas être analysé et n'est plus valable!**

Les interprétations suivantes sont possibles:

- **Cryptosporidium positif** : les bandes **rouge** et **bleue** sont visibles.
- **Cryptosporidium négatif** : seule la bande **bleue** est visible.
- **Non valable** : aucune bande n'est visible ou une autre constellation que celle décrite ci-dessus et d'autres altérations de couleurs des bandes sont présentes. De plus, les colorations des bandes, survenant au bout de 10 minutes ou ultérieurement, n'influent pas sur le diagnostic et ne doivent pas être analysées.

## 12. Limites de la méthode

Le RIDA<sup>®</sup>QUICK Cryptosporidium caractérise l'antigène du Cryptosporidium parvum dans les prélèvements de selles. Il n'est pas possible d'en déduire un rapport entre l'intensité des bandes spécifiques visibles et l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques. **Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés en liaison avec le tableau clinique.**

Un résultat **positif** n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes infectieux.

Un résultat **négatif** n'exclut pas une éventuelle infection due à un Cryptosporidium. Il peut être causé par l'élimination intermittente de l'agent pathogène ou par une quantité trop faible d'antigène dans l'échantillon. Si, sur le plan de l'anamnèse, une infection avec l'agent pathogène recherché est soupçonnée avec raison, un autre prélèvement de selles du patient doit être examiné.

Un excédent de prélèvement de selles peut entraîner des bandes de couleur marron à la place des bandes colorées spécifiquement. Ces bandes marrons n'influent pas sur le diagnostic. Dans de tels cas, un autre test est nécessaire en utilisant une quantité de selles plus faible ou une nouvelle dilution de la suspension déjà réalisée (liquide clair au-dessus après la sédimentation) afin de déterminer si l'agent pathogène recherché se trouve vraiment dans le prélèvement et a été recouvert par une quantité trop élevée de matrice utilisée de selles.

## 13. Caractéristiques

### 13.1. Etudes comparatives cliniques

Dans un laboratoire de routine, une étude comparative du RIDA<sup>®</sup>QUICK Cryptosporidium et de la méthode de microscopie utilisée jusqu'alors a été effectuée sur 55 échantillons de selles congelés et frais (15 échantillons de selles Cryptosporidium positifs et 40 négatifs). Les résultats sont résumés dans le tableau 1.

Tab. 1: Comparaison du RIDA<sup>®</sup>QUICK Cryptosporidium et de la microscopie

|             |   | RIDA <sup>®</sup> QUICK Cryptosporidium |    |
|-------------|---|---|----|
|             |   | +                                       | -  |
| Microscopie | + | 14                                      | 1  |
|             | - | 0                                       | 40 |

**Sensitivité : 93,8 %**

**valeur de prévision pos. : 100,0 %**

**Spécificité : 100,0 %**

**valeur de prévision nég. : 97,5 %**

### 13.2. Réactivité croisée

Aucun des parasites intestinaux énumérés ci-après n'entraîne de réaction croisée dans le RIDA<sup>®</sup>QUICK Cryptosporidium :

Entamoeba coli

Blastocystis hominis

Iodamoeba bütschlii

Chilomastix mesnili

Endolimax nana

Oeufs du Taenia spp.

Giardia lamblia

## Bibliographie

1. Clavel, A.: Evaluation of the optimal number of fecal specimens in the diagnosis of cryptosporidiosis in AIDS and immunocompetent patients. *Eur. Journal Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 14, 46-49 (1995).
2. Current, W. L., Garcia, L. S.: Cryptosporidiosis. *Clinics in Laboratory Medicine* 11 (No. 4), 873 - 895 (1991).
3. Current, W. L., Garcia, L. S.: Cryptosporidiosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 4 (No. 3), 325 - 358 (1991).
4. Flanigan, T. P.: Human immunodeficiency virus infection and cryptosporidiosis: Protective immune responses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 50 (5) Suppl., 29 - 35 (1994).
5. Guarino, A. et al.: Human intestinal cryptosporidiosis: secretory diarrhea and enterotoxic activity in Caco-2 cells. *J. Infect. Dis.* 171, 976 - 983 (1995).
6. Hayes, E. B. et al.: Large community outbreak of cryptosporidiosis due to contamination of a filtered public water supply. *New. Engl. J. Med.* 320 (No. 21), 1372 - 1376 (1989).
7. Le Chevallier, M. W. et al.: Giardia and Cryptosporidium spp. in filtered drinking water supplies. *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (No. 9), 2617 - 2621 (1991).
8. Mc. Anulty, J. M. et al.: A community wide outbreak of cryptosporidiosis associated with swimming at a wave pool. *Jama* 272 (No. 20), 1597 - 1600 (1994).