

RIDA[®] QUICK Cryptosporidium

Αριθ. Προϊόντος: N1203



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



1. Πεδίο εφαρμογής

Για διαγνώσεις *in vitro*. Η εξέταση RIDA[®]QUICK Cryptosporidium είναι μία ανοσοχρωματογραφική ταχεία εξέταση για την ποιοτική διαπίστωση της παρουσίας του παρασίτου *Cryptosporidium parvum* σε δείγματα κοπράνων.

2. Περίληψη και εξήγηση της εξέτασης

Το **Cryptosporidium parvum** είναι ένα παράσιτο ευρέως διαδεδομένο στα ζώα, αλλά και σημαντικό παθογενές μικρόβιο που παρουσιάζεται συχνά στα κατοικίδια, ειδικά στα μοσχάρια. Συχνότερα πλέον παρατηρείται η μόλυνση και στους ανθρώπους σε πολλές χώρες. Το παράσιτο προκαλεί συχνά και ιδιαίτερα σε παιδιά που ζουν σε τροπικές χώρες ενδημική και επιδημική διάρροια. Σε ασθενείς με ισχυρό ανοσοποιητικό σύστημα, η ασθένεια εμφανίζεται ως γαστρεντερίτιδα που περνάει από μόνη της. Η διάρροια διαρκεί από 3 έως 10 ημέρες και ενδέχεται να συνοδεύεται από πυρετό και γαστροεντερικά συμπτώματα, όπως ναυτία και πόνο, που είναι παρόμοια με αυτά της γιαρδίασης (λαμβλίας). Σε ασθενείς με αδύναμο ανοσοποιητικό σύστημα, τα συμπτώματα και το αντίκτυπο είναι σαφώς πιο σοβαρά, με πολύ δύσκολη και επίμονη διάρροια. Η μετάδοση της μόλυνσης μπορεί να γίνει από ζώο σε άνθρωπο μέσω του νερού, όμως μπορεί να πραγματοποιηθεί και από άνθρωπο σε άνθρωπο. Τα μέλη μίας κοινότητας, τα παιδιά ενός νηπιαγωγείου αλλά και οι ομάδες κινδύνου των ομοφυλοφίλων ανδρών και των φορέων του ιού HIV είναι ιδιαίτερος ευαίσθητες ομάδες. Η μέθοδος που χρησιμοποιούνταν συχνότερα στο παρελθόν για τη διάγνωση της κρυπτοσπορίωσης ήταν ο εντοπισμός οωκυστών στα κόπρανα μέσω μικροσκοπίου, δηλαδή η μικροσκοπική ανίχνευση του μικροβίου με λήψη δείγματος από το λεπτό έντερο, διαδικασία για την οποία ήταν απαραίτητη η παρουσία ειδικευμένου προσωπικού. Μία σημαντική εναλλακτική μέθοδος στην ανίχνευση μέσω μικροσκοπίου για τον εντοπισμό του παρασίτου *Cryptosporidium parvum* είναι η ακόλουθη ταχεία ανοσοχρωματογραφική εξέταση, η οποία είναι ισάξια με τη διαδικασία μικροσκοπικής ανίχνευσης με την ευαισθησία και την ειδικότητά της μέσω της χρήσης μονοκλωνικών αντισωμάτων. Η διεξαγωγή της εξέτασης είναι απλή και γρήγορη και δεν είναι απαραίτητο να γίνει από μικροβιολογικά εξειδικευμένο προσωπικό.

3. Αρχή της εξέτασης

Η εν λόγω ταχεία εξέταση διενεργείται σε ένα στάδιο και πρόκειται για ανοσοχρωματογραφική εξέταση πλευρικής ροής, κατά την οποία γίνεται ζεύξη των κρυπτοσποριδίων με ειδικά αντισώματα σε μόρια λάτεξ, ενώ στη μεμβράνη τοποθετούνται σταθερά επιπλέον ειδικά αντισώματα ενάντια στον παθογόνο. Κατόπιν το δείγμα κοπράνων αραιώνεται στο διάλυμα και διενεργείται η καθίζηση.

Ένα τμήμα του διαφανούς διαλύματος του δείγματος τοποθετείται στη λωρίδα εξέτασης, όπως και τα μόρια λάτεξ, στα οποία σε περίπτωση παρουσίας του παράσιτου επικολλούνται τα αντίστοιχα αντιγόνα, περνούν μέσω της μεμβράνης και δεσμεύονται σε συγκεκριμένες ταινίες.

4. Περιεχόμενο συσκευασίας

Τα αντιδραστήρια μιας συσκευασίας επαρκούν για 20 προσδιορισμούς

Cassette	20 τεμ.	20 ξεχωριστά συσκευασμένες κασέτες εξέτασης
Diluent	26 ml	Δοχείο αραίωσης, έτοιμο προς χρήση περιέχει 0,1 % αζωτούχο νάτριο
Pipet	25 τεμ.	Συσκευασία με 25 σταγονόμετρα μίας χρήσης

5. Αντιδραστήρια και η αποθήκευση αυτών

Η συσκευασία μπορεί να αποθηκευθεί στους 2 – 30 °C και μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως και την ημερομηνία λήξεως. Μετά την παρέλευση της ημερομηνίας λήξης δεν μπορεί πλέον να ισχύει καμία εγγύηση ποιότητας. Παρομοίως και για τις κασέτες εξέτασης δεν ισχύει καμία εγγύηση σε περίπτωση που παρουσιάζεται φθορά της ξεχωριστής συσκευασίας.

6. Επιπρόσθετα απαραίτητα αντιδραστήρια – απαιτούμενα εξαρτήματα

- Δοκιμαστικά σωληνάρια για διάλυση του δείγματος κοπράνων
- Στροβιλιζόμενος αναμικτήρας (προαιρετικός)
- Μικροσταγονόμετρο (200 μl – 1000 μl)
- δοχείο αποβλήτων με διάλυμα υποχλωριούχου νατρίου 0,5 %

7. Μέτρα ασφαλείας

Μόνο για διαγνώσεις in vitro.

Αυτή η εξέταση πρέπει να γίνεται μόνο από εκπαιδευμένο εργαστηριακό προσωπικό. Πρέπει να δοθεί προσοχή στις οδηγίες εργασίας σε ιατρικά εργαστήρια. Πρέπει να τηρούνται αυστηρά οι οδηγίες χρήσης σχετικά με τη διεξαγωγή της εξέτασης.

Το διάλυμα αραίωσης του δείγματος περιέχει αζωτούχο νάτριο ως συντηρητικό. Πρέπει να αποφεύγεται επαφή με το δέρμα ή τους βλεννογόνους.

Μην φυσάτε τα δείγματα ή τα αντιδραστήρια με το στόμα, να αποφεύγετε την επαφή με τραύματα στο δέρμα ή στους βλεννογόνους. Κατά την εργασία με δείγματα να φοράτε γάντια μίας χρήσης και να πλένετε τα χέρια σας μετά το τέλος της εξέτασης. Αποφεύγετε το κάπνισμα και την κατανάλωση ποτού και φαγητού στους χώρους όπου γίνεται η επεξεργασία των δειγμάτων.

Όλα τα αντιδραστήρια και τα υλικά, τα οποία έρχονται σε επαφή με πιθανώς μολυσματικά δείγματα πρέπει να τα επεξεργάζεστε με τα κατάλληλα απολυμαντικά μέσα ή να αποστειρώνονται για 1 ώρα τουλάχιστον στους 121 °C.

8. Συγκέντρωση και αποθήκευση των δειγμάτων

Τα δείγματα των κοπράνων πρέπει να συλλέγονται σε καθαρά δοχεία χωρίς να γίνεται προσθήκη ουσιών και να αποθηκεύονται στους 2 – 8 °C πριν από τη διεξαγωγή της εξέτασης. Όσον αφορά την αποθήκευση για περισσότερες από 3 ημέρες, το δείγμα θα πρέπει να φυλάσσεται στους -20 °C. Στην περίπτωση αυτή το δείγμα πριν από τη διεξαγωγή της εξέτασης θα πρέπει να τήκεται πλήρως και να βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου. Αποφεύγετε την επανειλημμένη ψύξη και απόψυξη του δείγματος.

Εάν πρέπει να χρησιμοποιηθούν επιχρίσματα ορθού, πρέπει να προσέξετε να υπάρχει αρκετό υλικό περιττωμάτων (περ. 50 mg) για την εκτέλεση της δοκιμής.

9. Διεξαγωγή της εξέτασης

9.1. Γενικά

Πριν από τη χρήση, τα δείγματα, το διάλυμα αραιώσης και οι λωρίδες εξέτασης θα πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου (20 – 25 °C). Οι κασέτες εξέτασης θα πρέπει να αφαιρούνται από τη συσκευασία τους λίγο πριν από τη διεξαγωγή της εξέτασης. Οι κασέτες που χρησιμοποιήθηκαν μία φορά δεν πρέπει να ξαναχρησιμοποιηθούν. Αποφύγετε την άμεση έκθεση σε ηλιακή ακτινοβολία κατά τη διεξαγωγής της δοκιμής.

Το υπερβάλλον αντιδραστήριο δεν επιτρέπεται να ξαναμπεί στο δοχείο επειδή έτσι μπορεί να γίνει μόλυνση.

9.2. Προετοιμασία των δειγμάτων

Σε ένα επισημασμένο δοκιμαστικό σωλήνα προετοιμάζεται 1 ml αραιωτικό διάλυμα δείγματος **Diluent**. Σε περίπτωση **υγρών** δειγμάτων κοπράνων τοποθετούνται με το σταγονόμετρο μίας χρήσης **Pipet** 100 μl (έως λίγο παραπάνω από τη διπλάσια πυκνότητα) στο δοχείο αραιώσης. Σε περίπτωση **στερεών** δειγμάτων κοπράνων τοποθετούνται 50 mg στο δοχείο αραιώσης. Το δείγμα θα πρέπει έπειτα να ομογενοποιηθεί καλά.

Αυτό πραγματοποιείται είτε με επαναλαμβανόμενη αναρρόφηση και επανατοποθέτηση του δείγματος στο δοχείο αραίωσης με το σταγονόμετρο μίας χρήσης **Pipet** ή εναλλακτικά με ανάμιξη σε ένα στροβιλιζόμενο αναμικτήρα. Έπειτα αφήστε το ομογενοποιημένο διάλυμα να κατακάτσει τουλάχιστον για **3 λεπτά** ώσπου να σχηματιστεί ένα διαφανές διάλυμα.

9.3. Εξέταση του δείγματος

Η κασέτα **Cassette** αφαιρείται από την ξεχωριστή συσκευασία και τοποθετείται σε λεία επιφάνεια. Τοποθετήστε 200 μl του διαφανούς διαλύματος μέσω του μικροσταγονόμετρου ή 4 σταγόνες μέσω του σταγονόμετρου μίας χρήσης **Pipet** στο κυκλικό άνοιγμα της κασέτας εξέτασης. Προσέξτε ώστε η ροή του δείγματος να διενεργείται ανεμπόδιση μέσω της μεμβράνης. Αφαιρέστε τα σωματίδια που ενδέχεται να εμποδίζουν τη ροή του δείγματος. Έπειτα από **5 λεπτά** μπορείτε να διαπιστώσετε το αποτέλεσμα της εξέτασης.

10. Έλεγχος ποιότητας – Ενδείξεις αλλοίωσης αντιδραστηρίων

Η εξέταση μπορεί μόνο να διενεργηθεί αν δεν υπάρχει κανένα ίχνος φθοράς των κασετών εξέτασης **πριν** από την τοποθέτηση στο διάλυμα του δείγματος και πως δεν υπάρχουν χρωματικές ή άλλες αλλοιώσεις που να είναι ορατές. **Μετά** τον απαραίτητο χρόνο για την εξέταση, θα πρέπει να εμφανιστεί τουλάχιστον η **μπλε** ταινία ελέγχου. Σε περίπτωση που δεν είναι ορατή, θα πρέπει να ελεγχθούν τα ακόλουθα σε επανάληψη της εξέτασης:

- Ανθεκτικότητα της κασέτας εξέτασης και του χρησιμοποιημένου διαλύματος
- ακριβής διεξαγωγή του τεστ
- Μόλυνση του διαλύματος

Σε περίπτωση που, ακόμη και μετά την επανάληψη της εξέτασης με νέα κασέτα, η ταινία ελέγχου δεν είναι ορατή, απευθυνθείτε στον κατασκευαστή.

11. Αξιολόγηση και ερμηνεία

Ο μέγιστος αριθμός ταινιών που ενδέχεται να εμφανιστούν είναι δύο: μία κόκκινη ταινία αντίδρασης και μία μπλε ταινία ελέγχου. **Σε περίπτωση που λείπει η μπλε ταινία, η εξέταση δεν ισχύει!**

Οι ακόλουθες ερμηνείες είναι δυνατές:

- **Θετικό για Cryptosporidium** : η **κόκκινη** και η **μπλε** ταινία είναι ορατές.
- **Αρνητικό για Cryptosporidium** : μόνο η **μπλε** ταινία είναι ορατή.
- **Δεν ισχύει**: καμία ταινία ή κανένας άλλος συνδυασμός ως περιγράφονται παραπάνω δεν είναι ορατός, καθώς και άλλα χρώματα των ταινιών. Παρομοίως οι χρωματισμοί των ταινιών που εμφανίζονται μετά από 10 λεπτά ή αργότερα δεν διαθέτουν διαγνωστική αξία και σημασία.

12. Όρια της μεθόδου

Το RIDA® Quick Cryptosporidium εντοπίζει την παρουσία του παράσιτου Cryptosporidium parvum σε δείγματα κοπράνων. Δεν υφίσταται σχέση μεταξύ της έντασης του χρωματισμού των λωρίδων και της εμφάνισης ή των βαριών κλινικών συμπτωμάτων. **Τα αποτελέσματα πρέπει πάντα να αξιολογούνται σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα.**

Ένα **θετικό** αποτέλεσμα δεν αποκλείει την ύπαρξη κι άλλων μολυσματικών παραγόντων.

Ένα **αρνητικό** αποτέλεσμα δεν αποκλείει ενδεχόμενη μόλυνση με κρυπτοσπορίδια. Αυτό μπορεί να οφείλεται στον ασυνεχή διαχωρισμό του ιού ή στη μικρή ποσότητα αντιγόνων στο δείγμα. Εάν υπάρχει αιτιολογημένη υποψία λοίμωξης βάσει του ιστορικού του ασθενούς, θα πρέπει να εξεταστεί ένα επιπρόσθετο δείγμα κοπράνων.

Υπερβολική ποσότητα δείγματος κοπράνων μπορεί να προκαλέσει τον καστανόχρωμο χρωματισμό των ταινιών. Αυτές οι καστανόχρωμες ταινίες δεν έχουν καμία διαγνωστική αξία. Σε ανάλογες περιπτώσεις είναι απαραίτητο να διεξαχθεί η εξέταση εκ νέου με ελαττωμένη ποσότητα δείγματος κοπράνων ή με αραίωση του υπάρχοντος παρασκευάσματος (πρέπει να σχηματιστεί διαφανές διάλυμα μετά την καθίζηση), ώστε να διασαφηνιστεί εάν οι αντίστοιχοι παθογόνοι βρίσκονται όντως στο δείγμα και δεν εμφανίστηκαν λόγω αυξημένης ποσότητας δείγματος κοπράνων.

13. Χαρακτηριστικά απόδοσης

13.1. Κλινικές συγκριτικές μελέτες

Σε ένα συνηθισμένο εργαστήριο έγινε συγκριτική εξέταση 55 δειγμάτων κοπράνων, κατεψυγμένων και μη (15 θετικά σε Cryptosporidium parvum και 40 αρνητικά) με την εξέταση RIDA®QUICK Cryptosporidium και με τη μέχρι τούδε καθιερωμένη μέθοδο μικροσκοπίου. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον πίνακα 1.

Πιν. 1: Σύγκριση του RIDA®QUICK Cryptosporidium με τη μέθοδο μικροσκοπίου

RIDA®QUICK Cryptosporidium		
	+	-
μέθοδος μικροσκοπίου	14	1
	0	40

ευαισθησία 93,8 %

ακρίβεια 100,0 %

θετ. τιμή πρόβλεψης : 100,0 %

αρν. τιμή πρόβλεψης: 97,5 %

13.2. Διασταυρούμενη αντιδραστικότητα

Κανένα από τα ακόλουθα παράσιτα του εντέρου δεν εμφανίζει διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με το RIDA[®]QUICK Cryptosporidium:

Entamoeba coli

Blastocystis hominis

Jodamoeba butschlii

Chilomastix mesnili

Endolimax nana

Αυγά *Taenia* spp.

Giardia lamblia

Βιβλιογραφία

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).