

RIDASCREEN® Cryptosporidium

Réf. : C1201



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Allemagne

Téléphone : +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax : +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Le test RIDASCREEN® Cryptosporidium est un dosage immuno-enzymatique qui permet de déterminer qualitativement la présence de *Cryptosporidium parvum* et de *Cryptosporidium hominis* dans des échantillons de selles humaines.

2. Résumé et explication du test

La cryptosporidiose est une infection protozoaire qui est causée par le genre *Cryptosporidium*. Il s'agit d'un parasite qui est très répandu chez les animaux et que l'on peut trouver comme micro-organisme pathogène chez les animaux domestiques, en particulier les veaux.

Chez les patients immunocompétents, la maladie se manifeste comme une gastro-entérite à guérison spontanée. La diarrhée dure de 3 à 10 jours et peut être accompagnée de fièvre et de symptômes gastro-intestinaux, comme des nausées et des douleurs ressemblant à celles de la giardiase (lambliaose).

Les symptômes et les effets sont beaucoup plus graves chez les patients immunodéprimés chez qui les diarrhées sont très graves et persistantes. L'infection peut être transmise de l'animal à l'homme par l'eau contaminée, mais aussi de l'homme à l'homme lors d'un contact direct avec un patient. La méthode utilisée le plus couramment dans le passé pour diagnostiquer la cryptosporidiose était la détermination microscopique des ookystes dans les selles et/ou l'examen microscopique de prélèvements de biopsie de l'intestin grêle, ce qui entraînait la présence obligatoire d'un personnel compétent.

Le test Cryptosporidium ELISA décrit ici pour la détermination simultanée de deux agents pathogènes dans des échantillons de selles est une alternative intéressante au diagnostic par examen microscopique. Sa sensibilité est tout aussi satisfaisante que celle de l'examen microscopique ; le test ne requiert pas de personnel particulier formé en parasitologie, est simple et rapide à effectuer et ne dépend pas de la présence d'organismes intacts (kystes ou trophozoïtes) dans l'échantillon de selles.

3. Principe du test

Le test RIDASCREEN® Cryptosporidium utilise des anticorps spécifiques en appliquant une méthode de type sandwich. Ces anticorps spécifiques contre *Cryptosporidium parvum* et *Cryptosporidium hominis* se fixent sur la surface des puits de la microplaque. Une suspension de l'échantillon de selles à examiner ainsi que des contrôles sont pipetés ensemble avec des anticorps anti-Cryptosporidium biotinylés (conjugué 1) dans le puits de la microplaque, puis sont mis à incuber à température ambiante (20 à 25 °C). Après une étape de lavage, le conjugué polyperoxydase-streptavidine (conjugué 2) est ajouté et de nouveau mis à incuber à température ambiante (20 à 25 °C). Si des anticorps anti-Cryptosporidium sont présents dans l'échantillon de selles, les anticorps immobilisés, l'antigène de Cryptosporidium et l'anticorps conjugué forment un complexe sandwich. Le conjugué polyperoxydase-streptavidine non lié

est éliminé au cours d'une autre étape de lavage. Dans les échantillons positifs, l'ajout d'un substrat modifie l'enzyme liée dans la solution incolore qui vire au bleu. L'ajout d'un réactif d'arrêt fait virer la couleur du bleu au jaune. L'extinction est proportionnelle à la concentration des antigènes de *Cryptosporidium* présents dans l'échantillon.

4. Réactifs fournis

Les réactifs fournis dans la trousse permettent de faire 96 déterminations.

Plate	96	Microplaque, 12 barrettes à micropuits (sécables) sur le support, revêtue d'anticorps ciblant spécifiquement les antigènes de <i>Cryptosporidium parvum</i> et de <i>Cryptosporidium hominis</i> .
Diluent 1	100 ml	Tampon de dilution d'échantillon, solution de NaCl tamponnée à la protéine, prêt à l'emploi, de couleur bleue
Wash	100 ml	Tampon de lavage, solution de NaCl tamponnée au phosphate (concentrée 10 fois), contient 0,1 % de thimérol
Control +	2 ml	Antigène de <i>Cryptosporidium</i> inactivé, prêt à l'emploi
Control -	2 ml	Contrôle négatif (tampon de dilution d'échantillon), prêt à l'emploi
Conjugate 1	13 ml	Anticorps conjugués à la biotine ciblant les antigènes spécifiques de <i>Cryptosporidium</i> dans une solution protéique stabilisée, prêts à l'emploi, de couleur bleue
Conjugate 2	13 ml	Conjugué polyperoxydase-streptavidine dans une solution protéique stabilisée, prêt à l'emploi, de couleur orange
Substrate	13 ml	Peroxyde d'hydrogène/TMB, prêt à l'emploi
Stop	12 ml	Réactif d'arrêt, acide sulfurique 1 N, prêt à l'emploi

5. Les réactifs et leur stockage

Tous les réactifs doivent être entreposés entre 2 et 8 °C et peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Le tampon de lavage dilué peut être conservé entre 2 et 8 °C pendant 4 semaines maximum. La contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.

Le sachet en aluminium doit être ouvert à l'aide de ciseaux sans déchirer le joint d'étanchéité. Les barrettes à micropuits qui ne sont pas nécessaires doivent être remises immédiatement dans le sachet en aluminium et conservées entre 2 et 8 °C.

Le substrat incolore doit également être protégé de la lumière directe pour éviter qu'il ne se décompose ou ne bleuisse sous l'effet d'une auto-oxydation. Lorsque le substrat est bleu, il ne doit pas être utilisé.

6. Autres réactifs et matériels nécessaires

6.1. Réactifs fournis

- Eau distillée ou désionisée

6.2. Équipement

- Tubes à essai
- Pipettes à usage unique (réf. : Z0001)
- Agitateur-mélangeur vortex (facultatif, voir rubrique 9.3.)
- Micropipettes pour volumes de 50 à 100 µl et 1 ml
- Éprouvette graduée (1 000 ml)
- Chronomètre
- Appareil de lavage pour microplaques ou pipettes multicanaux (300 µl)
- Photomètre pour microplaques (450 nm et filtre de référence à 620-650 nm)
- Papier filtre (serviettes de laboratoire)
- Conteneur de déchets avec une solution d'hypochlorite à 0,5 %

7. Précautions à prendre par l'utilisateur

Uniquement pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test ne doit être réalisé que par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre.

Les échantillons ou réactifs ne doivent pas être pipetés à la bouche et tout contact avec une peau ou des membranes muqueuses lésées doit être évité. Lors de la manipulation des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés.

Pour en savoir plus, consulter la Fiche de données de sécurité (FDS) à l'adresse www.r-biopharm.com.

La trousse comprend un contrôle positif qui contient l'antigène inactivé de *Cryptosporidium*. Les toxines et les échantillons de selles doivent être traités comme du matériel potentiellement infectieux et manipulés conformément aux règlements de sécurité nationaux.

Le tampon de lavage contient du thimérosal à 0,1 % en tant que conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Après utilisation, veiller à mettre au rebut tous les réactifs et matériels d'une manière adéquate et responsable. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Avant utilisation, entreposer le matériel de test entre 2 et 8 °C. S'il n'est pas possible d'effectuer le test en l'espace de trois jours, il est préconisé de conserver le matériel à une température inférieure ou égale à -20 °C. Éviter de congeler et décongeler les échantillons plusieurs fois.

Les échantillons de selles ne doivent pas être recueillis dans des conteneurs de transport renfermant un milieu de transport et des conservateurs, du sérum animal, des ions métalliques, des agents oxydants ou des détergents, car ces substances peuvent interférer avec le test RIDASCREEN® Cryptosporidium.

Lorsque des **frottis** rectaux sont utilisés, il faut veiller à disposer d'une quantité nécessaire de selles pour effectuer le test (env. 100 mg).

La recherche des contacts doit inclure des échantillons de selles provenant des personnes ayant été en contact qui ne présentent pas de symptômes cliniques, afin d'identifier des porteurs asymptomatiques.

9. Procédures de test

9.1. Informations générales

Tous les réactifs et la microplaque **Plate** doivent être ramenés à température ambiante (20 à 25 °C) avant utilisation. Les barrettes à micropuits ne doivent pas être retirées du sachet en aluminium avant d'avoir atteint la température ambiante. Les réactifs doivent être bien mélangés immédiatement avant leur utilisation. Après utilisation, les barrettes à micropuits (placées dans des sachets fermés hermétiquement) et les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8 °C. Une fois utilisées, les barrettes à micropuits ne doivent pas être réutilisées. Les réactifs et les barrettes à micropuits ne doivent pas être utilisés si l'emballage est endommagé ou si les flacons fuient. Pour éviter toute contamination croisée, les échantillons ne doivent pas entrer en contact direct avec les composants de la trousse.

Le test ne doit pas être réalisé à la lumière directe du soleil. Nous recommandons de couvrir la microplaque ou de placer un film plastique dessus pour éviter toute perte par évaporation.

9.2. Préparation du tampon de lavage

Mélanger 1 volume de concentré de tampon de lavage **Wash** avec 9 volumes d'eau distillée. Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent dissous par réchauffement préalable (dans un bain d'eau à 37 °C).

9.3 Préparation des échantillons

Prendre un tube à essai marqué et le remplir avec 1 ml de tampon de dilution des échantillons RIDASCREEN® Diluent | 1. Aspirer un échantillon de selles liquides (environ 100 µl) au moyen d'une pipette à usage unique (réf. Z0001) jusqu'au-dessus du deuxième repère et ajouter au tampon du tube à essai pour obtenir une suspension. Pour obtenir une suspension avec des selles dures, ajouter une quantité équivalente de selles (environ 50 à 100 mg) prélevée à l'aide d'une spatule ou d'une anse de prélèvement à usage unique.

Homogénéiser la suspension de selles par aspiration, puis éjection avec une pipette à usage unique ou par mélange dans un agitateur-mélangeur vortex. Laisser la suspension reposer pendant une courte période pour laisser aux particules grossières de selles le temps de se déposer ; le liquide clair surnageant la suspension de selles peut être directement utilisé pour le test. Si la procédure de test est effectuée dans un automate ELISA, ce liquide surnageant doit être dépourvu de particules. Dans ce cas, une centrifugation à 2 500 G pendant 5 minutes est recommandée.

Remarque :

Des échantillons de selles dilués dans le Diluent | 1 peuvent être soumis à tous les tests RIDASCREEN® ELISA qui utilisent le Diluent | 1.

9.4. Première incubation

Après avoir rempli une quantité suffisante de puits dans le support, ajouter 100 µl du contrôle positif Control | +, du contrôle négatif Control | - ou de la suspension de l'échantillon de selles dans les puits. Ajouter ensuite 100 µl de l'anticorps conjugué à la biotine Conjugate | 1 et mélanger (en tapotant légèrement le bord de la plaque), puis incuber pendant 30 minutes à température ambiante (20 à 25 °C).

9.5. Lavage

Un lavage soigneux est important afin d'obtenir des résultats corrects ; il convient donc de suivre les instructions fournies à la lettre. La substance incubée dans les puits doit être déversée dans un conteneur de déchets et mise au rebut conformément aux réglementations locales. Retourner ensuite la plaque sur du papier absorbant pour éliminer l'humidité résiduelle. Laver ensuite la plaque cinq fois systématiquement avec 300 µl de tampon de lavage. S'assurer que les puits sont complètement vidés en les tapotant après chaque lavage sur un morceau de papier absorbant encore sec et inutilisé.

En cas d'utilisation d'un laveur de microplaques ou d'un système ELISA entièrement automatisé, veiller à ce que l'appareil soit correctement réglé. Demander, au besoin, au fabricant de vous en fournir les réglages. Les appareils fournis par R-Biopharm sont déjà programmés avec des réglages et des protocoles de travail validés. Pour éviter d'obstruer les aiguilles de lavage, il convient de n'utiliser que des suspensions de selles dépourvues de particules (voir paragraphe 9.3, Préparation des échantillons). S'assurer également que tout le liquide est aspiré à chaque étape de lavage.

9.6. Deuxième incubation

À l'aide d'une pipette, ajouter 100 µl de conjugué polyperoxydase-streptavidine **Conjugate | 2** dans les puits, puis incuber pendant 15 minutes à température ambiante (20 à 25 °C).

9.7. Lavage

Laver en suivant les instructions de la rubrique 9.5.

9.8. Troisième incubation

Ajouter 100 µl de substrat **Substrate** dans tous les puits. Ensuite, incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C), dans le noir, pendant 15 minutes. Remplir ensuite tous les puits avec 50 µl de réactif d'arrêt **Stop** afin d'arrêter la réaction. Après un mélange soigneux en tapotant légèrement le côté de la plaque, mesurer l'extinction à 450 nm (en variante : à 450/620 nm). Le réglage de la valeur nulle doit s'effectuer dans l'air, et donc sans la microplaque.

Remarque :

des échantillons de patients fortement positifs peuvent entraîner des précipités noirâtres du substrat.

10. Contrôle qualité – signes de réactif périmé

À des fins de contrôle qualité, chaque fois qu'un test est effectué, il est nécessaire d'utiliser des contrôles positif et négatif, pour vérifier la stabilité des réactifs et la réalisation correcte du test. Le test s'est déroulé correctement lorsque la valeur d'extinction (DO) du contrôle négatif à 450 nm est inférieure à 0,02 (inférieure à 0,160 à 450/620 nm) et lorsque la valeur mesurée du contrôle positif est supérieure à 0,8 à 450 nm ou à 450/620 nm. Une valeur supérieure à 0,2 (0,160) pour le contrôle négatif pourrait indiquer que le lavage n'a pas été suffisant. Tout écart par rapport aux valeurs requises, par exemple la présence de turbidité ou d'une coloration bleue du substrat incolore avant le remplissage des puits, pourrait indiquer une dénaturation des réactifs. En cas d'écart par rapport aux valeurs indiquées, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Procédure de test correcte
- Inspection visuelle des composants de la trousse à la recherche d'une contamination ou de fuites ; une solution de substrat devenue bleue ne doit pas être utilisée.

Si les conditions ne sont toujours pas satisfaites après avoir recommencé le test, consulter le fabricant ou un distributeur R-Biopharm local.

11. Évaluation et interprétation

11.1. Calcul de la valeur seuil

Pour déterminer la valeur seuil, on ajoute 0,15 unité d'extinction à l'extinction mesurée du contrôle négatif.

$$\text{Valeur seuil} = \text{valeur d'extinction du contrôle négatif} + 0,15$$

11.2. Résultats du test

Un échantillon est estimé comme étant **positif** lorsque sa valeur d'extinction est supérieure de plus de 10 % à la valeur seuil calculée.

Un échantillon est estimé comme étant **limite** si sa valeur d'extinction se situe dans une plage allant de -10 % à +10 % de la valeur seuil. Si un nouvel examen utilisant un nouvel échantillon de selles obtient une valeur comprise dans cette même plage d'ombre, l'échantillon est considéré comme étant négatif.

Des échantillons ayant des valeurs d'extinction inférieures à -10 % de la valeur seuil calculée doivent être considérés comme étant **négatifs**.

12. Limites de la méthode

Le test RIDASCREEN® *Cryptosporidium* permet de déterminer les antigènes de *Cryptosporidium parvum* et de *Cryptosporidium hominis*. Il n'est pas possible d'en déduire un rapport entre le niveau d'une valeur d'extinction déterminée et l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques. **Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés en rapport au 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 *Cryptosporidium*. Un tel résultat peut être causé par l'élimination temporaire du parasite ou par une quantité trop faible d'antigène dans l'échantillon. Si l'anamnèse est en faveur d'une suspicion d'infection par *Cryptosporidium*, un autre prélèvement de selles doit être examiné.

Un résultat **limite** peut être causé par une répartition non homogène des parasites dans l'échantillon des selles. Dans un tel cas, l'examen doit être répété avec une deuxième suspension provenant du même échantillon ou il convient de demander un autre prélèvement de selles à examiner.

13. Performances

13.1. Sensibilité analytique

Afin de déterminer la sensibilité analytique du test RIDASCREEN® Cryptosporidium ELISA, la limite du blanc (LB) a été déterminé avec 270 tests avec le diluant 1 et la limite de détection (LD) a été analysée dans 90 tests. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 1.

Tableau 1 : Résultats de la sensibilité analytique pour le test RIDASCREEN® Cryptosporidium ELISA

	VM [DO 450/620]	Kystes/réaction
LB	0,031	-
LD	0,053	1,56 x 10 ⁴

13.2. Étude de comparaison clinique

Une investigation clinique a évalué en Grande-Bretagne le test RIDASCREEN® Cryptosporidium avec un total de 240 échantillons de selles (études prospective et rétrospective en aveugle). Cette investigation a comparé les méthodes établies britanniques de microscopie pour les Cryptosporidium (coloration à l'auramine-phénol et de Ziehl-Neelsen) et une PCR de différenciation en temps réel. Les résultats de cette étude sont résumés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Comparaison entre le test RIDASCREEN® Cryptosporidium ELISA et la microscopie et la PCR en temps réel

		Microscopie		PCR en temps réel [#]	
		Positif	Négatif	Positif	Négatif
RIDASCREEN® Cryptosporidium	Positif	12	11	22	1
	Négatif	1	216	1	214

Sensibilité (IC) : 92 % (64 – 100)

96 % (78 – 100)

Spécificité (IC) : 95 % (91 – 98)

100 % (97 – 100)

[#]Quantité insuffisante de matériel dans deux échantillons de selles

IC : Intervalle de confiance en %

13.3. Réactivité croisée

Différents micro-organismes pathogènes du tractus intestinal ont été examinés avec le test RIDASCREEN® Cryptosporidium et à l'exception de *Campylobacter coli*, ils n'ont pas présenté de réactivité croisée. Ces études ont été réalisées avec des suspensions de bactéries ou de virus non

diluées dont les concentrations étaient de 10⁶ à 10⁹ organismes par ml. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 3.

Tableau 3 : Réactivité croisée avec des micro-organismes pathogènes

Organisme	Origine	DO [450/620] Valeur moyenne
Adénovirus	Surnageant de culture cellulaire	0,011
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Culture	-0,001
<i>Arcobacter butzleri</i>	Culture	0,012
Astrovirus	Surnageant de culture cellulaire	-0,001
<i>Bacillus cereus</i>	Culture	0,006
<i>Bacteroides fragilis</i>	Culture	-0,005
<i>Campylobacter coli</i>	Culture	0,181
<i>Campylobacter jejuni</i>	Culture	0,034
<i>Candida albicans</i>	Culture	0,016
<i>Citrobacter freundii</i>	Culture	0,008
<i>Clostridium difficile</i>	Culture	0,009
<i>Clostridium perfringens</i>	Culture	0,016
<i>Clostridium sordellii</i>	Culture	0,003
<i>Cryptosporidium muris</i>	Culture	2,782
<i>E. coli</i> EPEC	Culture	0,031
<i>E. coli</i> ETEC	Culture	0,002
<i>E. coli</i> STEC	Culture	0,017
<i>Entamoeba histolytica</i>	Culture	-0,003
<i>Enterobacter cloacae</i>	Culture	0,007
<i>Enterococcus faecalis</i>	Culture	0,001
<i>Giardia lamblia</i>	Selles	-0,004
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Culture	0,030
<i>Proteus vulgaris</i>	Culture	0,016
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Culture	0,037
Rotavirus	Surnageant de culture cellulaire	0,009
<i>Salmonella enteritidis</i>	Culture	0,018
<i>Salmonella typhimurium</i>	Culture	0,010
<i>Serratia liquefaciens</i>	Culture	0,005
<i>Shigella flexneri</i>	Culture	0,013
<i>Staphylococcus aureus</i>	Culture	0,020
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Culture	0,018
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Culture	0,019
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Culture	0,015

13.4. Précision

Afin de déterminer la reproductibilité intra-test, 40 répétitions de ces références ont été mesurées, couvrant l'ensemble de la plage de mesure des valeurs négatives à fortement positives. Les valeurs moyennes et les coefficients de variation (CV) ont été déterminés pour trois lots de trousse. Pour ce qui est de la reproductibilité intra-test, les références de dix jours de travail différents ont été mesurées en double, avec deux passages par jour. Les mesures ont été effectuées par trois techniciens et trois lots de trousse. La reproductibilité inter-lots a été déterminée sur les trois lots de trousse. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 4.

Tableau 4 : Reproductibilité/précision du test RIDASCREEN® Cryptosporidium ELISA

Tableau 4 : Reproductibilité/précision du test RIDASCREEN® Cryptosporidium ELISA

Référence		Intra-test			Inter-tests			Inter-lots
		Lot de la trousse 1	Lot de la trousse 2	Lot de la trousse 3	Lot de la trousse 1	Lot de la trousse 2	Lot de la trousse 3	Lot de la trousse 1-3
1	VM [DO 450/620]	2,262	2,584	2,562	1,729	2,163	1,926	1,939
	CV (%)	6,00%	7,36%	4,75%	17,34%	15,94%	11,19%	18,47%
2	VM [DO 450/620]	1,391	1,636	1,508	1,000	1,275	1,158	1,144
	CV (%)	5,81%	6,94%	5,93%	14,94%	18,02%	11,26%	19,20%
3	VM [DO 450/620]	1,050	1,083	1,262	0,759	1,012	0,891	0,887
	CV (%)	8,17%	8,15%	7,67%	17,72%	18,02%	13,20%	22,23%
4	VM [DO 450/620]	0,675	0,706	0,766	0,413	0,562	0,511	0,495
	CV (%)	4,93%	7,33%	7,97%	18,15%	20,13%	13,03%	23,01%
5	VM [DO 450/620]	0,461	0,487	0,479	0,259	0,357	0,320	0,312
	CV (%)	5,60%	9,69%	7,49%	25,29%	26,51%	22,13%	29,03%
6	VM [DO 450/620]	0,228	0,287	0,268	0,148	0,214	0,194	0,185
	CV (%)	6,96%	9,71%	6,67%	26,68%	25,63%	20,87%	30,12%

13.5. Substances interférentes

Les substances mentionnées ci-dessous n'ont pas présenté d'effet sur les résultats du test lorsqu'elles ont été mélangées dans les surnageants des échantillons de selles positifs et négatifs dans les concentrations indiquées :

sulfate de baryum (produit de contraste pour les radiographies par rayons X, 18,5 % p/p), lopéramide (antidiarrhéique, 0,02 % p/p), Pepto-bismol (antidiarrhéique, 6,6 % v/p), cyclamate

de sodium (édulcorant artificiel, 1,3 % v/p), sang humain (5,0 % v/p), acide stéarique/acide palmitique (graisses dans les selles, mélange 1:1, 40 % p/p), diclofénac (analgésique, 0,1 % v/p).

Dans le cas du métronidazole (0,5) (antibiotique, 3,0 % v/p) et des mucines (5,0 % p/p), les éventuelles relations entre la dose et l'effet ont été étudiées.

L'investigation d'une dilution en série avec le métronidazole n'a toutefois pas mis en évidence de relation entre la concentration et les valeurs de DO. La seule exception est la concentration la plus élevée testée, mais elle est encore supérieure à celle du « pire cas » qui a déjà été testée dans la première analyse (trois fois la dose quotidienne). Une interférence due au métronidazole peut donc être considérée comme étant improbable.

Les tests réalisés avec les mucines ont confirmé la première analyse, car les valeurs de DO qui étaient en permanence beaucoup trop faibles et altéraient les évaluations des échantillons apparaissaient de manière répétée dans toutes les dilutions en série. Les mucines sont donc considérées comme étant des substances interférentes.

Annexe

Symboles spécifiques au test :

Plate	Microplaque
Diluent 1	Tampon de dilution d'échantillon
Wash	Tampon de lavage
Control +	Contrôle positif
Control -	Contrôle négatif
Conjugate 1	Conjugué 1
Conjugate 2	Conjugué 2
Substrate	Substrat
Stop	Réactif d'arrêt

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).