

# Crypto-Strip

(C-1005)



## Test immunochromatograficzny in vitro do wykrywania oocyst *Cryptosporidium parvum* w próbkach kału.

### TYLKO DO UŻYTKU IN VITRO :

Numer katalogowy: C -1005, 25 testów w opakowaniu

#### I. WPROWADZENIE

Cryptosporidioza jest jedną z głównych przyczyn występowania uporczywej biegunki. Jest to spowodowane obecnością w przewodzie pokarmowym oocyst *Cryptosporidium parvum*. Pasożyt ten jest wysoce patogenny a zakażenie nim i przenoszenie następuje drogą oralną. Jest to także dodatkowy czynnik zakaźny u pacjentów poddawanych immunosupresji.

Symptomy cryptosporidiozy to wodnista biegunka, skurcze brzuszne, spadek wagi, nudności i gorączka.

W krajach uprzemysłowionych u 2-2,5% hospitalizowanych pacjentów z biegunką wykryto oocysty *C. parvum*. Dziesięć procent pacjentów chorych na AIDS ma chroniczną cryptosporidiozę a w krajach rozwijających się odsetek ten może być jeszcze wyższy i sięgać 40%. *C. parvum* diagnozowana jest metodą Ziehl-Neelsena czy immunofluorescencyjną. Dostępne są także różne testy ELISA do wykrywania specyficznych antygenów oocyst. Nowe metody biologii molekularnej, takie jak PCR, mogą być użyte do wykrywania pasożytów w dostarczanej wodzie czy przy bezobjawowym przebiegu choroby. Wszystkie z tych metod są niezwykle czułe i wymagają dużego doświadczenia operatora.

Coris BioConcept opracował immunochromatograficzny test, który wykrywa oocysty *Cryptosporidium parvum* w niestężonych próbkach kału w ciągu 10 minut.

#### II. ZASADA METODY

Test ten jest gotowy do użycia i bazuje na zastosowaniu jednolitego immunochromatograficznego systemu ze złotym koloidem.

Próbki kału muszą być rozcieńczone buforem, który jest dołączony do testu. Nitrocelulozowa membrana jest uczulona przeciwciałem skierowanym przeciwko określonym antygenom na błonie oocyst *Cryptosporidium parvum*.

Specyficzność testu jest gwarantowana przez monoklonalne przeciwciała, swoiste dla antygenów błony oocyst, które w połączeniu ze złotym koloidem tworzy stały konjugat na poliesterowej membranie. Kiedy pasek zostaje zanurzony w zawieszynie kału, rozpuszczony konjugat wędruje z próbka przez powierzchnię membrany, gdzie wchodzi w kontakt z anty-Cryptosporidium monoclonalnym przeciwciałem zaadsorbowanym na nitrocelulozie. Jeśli próbka zawiera oocysty *C. parvum*, to kompleks konjugat-oocysty zatrzymuje się w miejscu, w którym na membranie umieszczony jest stały odczynnik anty-Cryptosporidium. Rezultat - w postaci ciemnoczerwonej linii tworzącej się na pasku - pojawia się w ciągu 5 minut. Roztwór kontynuując wędrować, napotyka drugi odczynnik (anty-mysie IgG) i wiąże nadmiar konjugatu, tworząc w ten sposób drugą ciemnoczerwoną linię.

#### III. ODCZYNNIKI I MATERIAŁY

Każdy zestaw zawiera:

##### 1. Paski Crypto-strip (25)

Każdy pasek jest uczulony mysim anti-Cryptosporidium monoclonalnym przeciwciałem swoistym dla antygenów błony oocyst *Cryptosporidium parvum* oraz kozim anti-mysie IgG. Odczynniki oczyszczone na białku G zostały zaadsorbowane na nitrocelulozie.

Konjugat anti-Cryptosporidium utworzono przez użycie monoklonalnego przeciwciała skierowanego przeciw antygenom osłonki oocyst i po oczyszczeniu na białku G połączono je z cząsteczkami złotego koloidu.

Paski umieszczone są w pojemniku z saszetką pochłaniającą wilgoć.

##### 2. Roztwór buforu (15 ml)

Roztwór soli buforowany do pH 7.5 za pomocą buforu Tris, zawierający EDTA, Na<sub>3</sub> (<0.1%), detergent i naładowane białka.

#### Potrzebne materiały (nie dostarczone) :

- 3 lub 5 ml próbówki testowe
- eza do pobierania próbek kału

Autoryzowany przedstawiciel i dystrybutor  
Alpha Diagnostics Sp. z o.o.  
ul. Gabriela 2, 01-347 Warszawa  
Tel. (22) 631 40 13; fax (22) 632 42 11

Magazyn; Produkcja; Kontrola Jakości; Serwis  
ul. Stępińska 22/30, 00-739 Warszawa  
Tel. (22) 631 42 27; fax (22) 631 48 23  
e-mail: ad@alphadiag.com.pl  
www.alphadiag.com.pl

#### IV. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wszystkie czynności testu muszą być spełnione i wykonane zgodnie z Dobrą Praktyką Laboratoryjną.
- Test Crypto-Strip jest przeznaczony tylko do użytku in vitro.
- Należy unikać dotykania obszarów testowych paska.
- Używać rękawiczek w czasie pobierania próbki.
- Powyższe zalecenia są zgodne z DLP.
- Nigdy nie należy używać odczynników pochodzących z różnych serii.
- Pojemnik z paskami musi być dokładnie zamknięty po każdym wyjęciu pasków do badania, ze względu na ich podatność na zawilgocenie.
- Jakość się upewnić czy w środku znajduje się saszetka pochłaniająca wilgoć.
- Dwie zielone linie wyznaczają miejsce adsorpcji przeciwciała. Znikają one w trakcie badania.
- Nie używać buforu gdy jest zanieczyszczony bakteryjnie lub pokryty pleśnią.
- Jakość odczynników nie jest gwarantowana po przekroczeniu ich terminu użytkowania, lub gdy są niewłaściwie przechowywane.

#### V. PRZECHOWYWANIE

Nie używany zestaw Crypto-Strip przechowywany w temp. 4 - 37°C jest trwały do daty ważności podanej na opakowaniu.

Po otwarciu, przechowywany w temp. 4 - 37°C i suchym otoczeniu, zachowuje trwałość przez 15 tygodni.

Zestawu Crypto-Strip nie wolno zamrażać.

#### VI. PRÓBKİ

Próbki kału muszą być badane jak najszybciej po ich zebraniu. Jeśli testu nie wykonujemy od razu, próbki można przechować w temp. 2 - 8°C przez 24 godziny, lub przy dłuższym przechowywaniu zamrozić do -20°C. Należy się upewnić, że próbki nie były poddane działaniu formaldehydu lub jego pochodnych.

#### VII. WYKONANIE

##### Przygotowanie:

Jeśli zestaw Crypto-Strip był przechowywany w temp. 4°C, należy przed rozpoczęciem badania doprowadzić wszystkie odczynniki do temperatury pokojowej. Napisać nazwisko pacjenta lub numer próbki na próbówce testowej (zaplanować po jednej próbówce na próbce). Umieścić oznakowane próbówki w statywie.

##### Wykonanie:

1. Dodać 0.5 ml czyli 15 kropli roztworu buforu do każdej próbówki.
2. Zanurzyć w próbówce eżę zawierającą próbkę kału. Roztwór powinien być najwyżej 4% w/v, co równe jest wielkości dwóch 10 µL porcji próbki (małe ziarenko ryżu).
3. Wymieszać do uzyskania homogennej zawiesziny i pozostawić na 1-2 minut.
4. Usunąć szpatułkę i zanurzyć uczulony pasek w kierunku wyznaczonym przez pomarańczową strzałkę.
5. Inkubować 5-10 minut. Maksymalny czas reakcji - 15 minut.

#### Próbki mocno pozytywne będą wykrywane w ciągu 1-3 minut.

Aby uniknąć rozpuszczenia koloidalnego złotego konjugatu w roztworze, należy uważać, by nie zanurzyć paska powyżej linii umiejscowionej pod pomarańczową strzałką.

#### VIII. INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wyniki interpretowane są następująco:

- 1 górna linia = test negatywny
- 2 linie = test pozytywny
- brak linii = test nieważny\*

\* Brak górnej linii, która jest linią kontrolną, unieważnia wynik testu. W takim przypadku badanie należy powtórzyć.

W celu przechowania wykonanych testów pasek należy wysuszyć po usunięciu nadmiaru absorbentu, który zbiera się na dole paska. Po wysuszeniu, wokół linii testowej może pojawić się słabo widoczny cień.

## IX. CHARAKTERYSTYKA TESTU

### A. Czułość – Specyficzność (Korelacja):

Test był walidowany w laboratoriach Coris BioConcept przez porównanie rezultatów uzyskanych na paskach Crypto-Strip z wynikami uzyskanymi metodą ELISA i potwierdzonych mikroskopowo w Public Health Laboratory of Preston, Anglia (UK).  
Czułość testu Crypto-Strip była badana na 103 próbkach kału. Wyniki tych testów przedstawiają się następująco:

| ELISA            | Wyniki pozytywne | Wyniki negatywne | Wyniki końcowe |
|------------------|------------------|------------------|----------------|
| Pasek Crypto     |                  |                  |                |
| Wyniki pozytywne | 17               | 0                | 17             |
| Wyniki negatywne | 1                | 85               | 86             |
| Wyniki końcowe   | 18               | 85               | 103            |

Czułość = 94.4% (17/18)

Specyficzność = 100% (85/85)

Pewność (Zgodność) = 99.0% (102/103)

(Ilość próbek =103)

| Mikroskop        | Wyniki pozytywne | Wyniki negatywne | Wyniki końcowe |
|------------------|------------------|------------------|----------------|
| Pasek Crypto     |                  |                  |                |
| Wyniki pozytywne | 17               | 0                | 17             |
| Wyniki negatywne | 2                | 84               | 86             |
| Wyniki końcowe   | 19               | 84               | 103            |

Czułość = 89.5% (17/19)

Specyficzność = 100% (84/84)

Pewność (Zgodność) = 98.1% (101/103)

(Ilość próbek =103)

### B. Dokładność:

#### Wewnątrz serii:

Ta sama pozytywna próbka zawierająca *Cryptosporidium parvum* była badana piętnastokrotnie na tej samej serii zestawów Crypto-Strip.

Roztwór buforu był testowany piętnastokrotnie równolegle z pozytywnymi próbkami.

Uzyskane wyniki wykazały 100% poprawność.

Wszystkie piętnaście testów przebadanych na pozytywnej próbce, rozcieńczonej 1/24, dało wynik dodatni, w postaci dwóch kolorowych linii.

Wszystkie piętnaście testów przebadanego roztworu buforu było negatywne, poprzez ukazanie się jednej kolorowej linii (linia kontrolna).

#### Między-seriami:

Ta sama pozytywna próbka zawierająca *Cryptosporidium parvum* była testowana trzykrotnie na trzech różnych seriach zestawów Crypto-Strip.

Roztwór buforu był testowany trzykrotnie równolegle z pozytywnymi próbkami.

Uzyskane wyniki wykazały 100% poprawność.

We wszystkich trzech seriach zestawów Crypto-Strip przebadanej pozytywnej próbki, rozcieńczonej 1/24 uzyskano wyniki dodatnie, oraz ujemne - dla roztworu buforu w każdym z testów.

### C. Ograniczenia wykrywania:

Próg wykrywalności testu Crypto-Strip ustalono na poziomie 50 -100 oocyst *Cryptosporidium parvum* w 100µL kału.

### D. Interakcje:

Nie stwierdzono oddziaływania na wyniki następujących czynników patogennych:

- Adenovirus – grupy A-F (n = 25)
- Adenovirus 40/41 (n = 15)
- *Campylobacter jejuni* (n = 10)
- *Giardia lamblia* (n =10)
- Rotavirus (n = 25)
- E.Coli 0157; H7 (n = 2)
- *Salmonella typhimurium* (n = 1)
- *Salmonella enteritidis* (n = 1)
- *Yersinia enterocolitica* (n = 3)
- *Helicobacter pylori* (n = 1)
- *Aeromonas hydrophila* (n = 1)

## X. OGRANICZENIA

Wyniki testów Crypto-Strip muszą być porównywane z innymi dostępnymi klinicznymi objawami i laboratoryjnymi informacjami.

Pozytywny wynik testu nie wyklucza możliwości obecności innych patogenów.

Test Crypto-Strip jest skriningowym testem ostrej fazy. Próbki kału zebrane po jej zakończeniu mogą mieć miana antygeny poniżej progu wykrywalności testu.

Producent:

Coris BioConcept

Science Park - CREALYS

Rue Phocas Lejeune, 30 bte 9

B - 5032 GEMBLOUX

Tel : +32(0)81.719.917

Fax : +32(0)81.719.919

E-mail: info@corisbio.com

BELGIUM

<http://www.corisbio.com>

**CE/98/79 numer rejestracyjny : BE/CA02/002/01**

**Wydanie instrukcji: Kwiecień 2005**

**Aktualizacja: 01.04.2007**