ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay

REF R2454024 .....24 tests **DA**
REF R2454096 .....96 tests

1. TILSIGTET ANVENDELSE

ProSpecT™ Cryptosporidium Microplate Assay benytter monoklonalt antistof til kvalitativ påvisning af *Cryptosporidium*-specifikt antigen (CSA) i vandige ekstrakter af fæcesprøver.

2. RESUMÉ

Cryptosporidiose er for nylig blevet anerkendt som en vigtig human lidelse i det meste af verden[6,9]. Årsagsorganismen, *Cryptosporidium* spp., er blevet identificeret i afføringsprøver fra børn og voksne i mange lande og i de fleste stater i USA[6]. Denne parasit er blevet sat i forbindelse med alvorlige lidelser hos HIV-inficerede personer[10], børnehaver[1,2,11,12] og vandbårne udbrud[5,7,8] i USA. Særlige risikogrupper omfatter immunsvækkede personer, især personer med HIV-infektion samt familiemedlemmer og sexpartnere til inficerede patienter, børn og personale i børnehaver, mennesker der arbejder med dyr samt mennesker der rejser[6]. Akutte symptomer på cryptosporidiose kan omfatte diarré, mavesmerter, kvalme og opkast, feber, utilpashed og åndedrætsproblemer, der varer fra nogle dage og op til flere måneder, og som ofte fører til vedvarende infektion eller død for personer med immunforsvarslidelser[6]. Infektion med *Cryptosporidium* kan også være asymptomatisk.

Cryptosporidium specifikke antigener er blevet fundet i forbindelse med *cryptosporidium* infektioner og er blevet brugt som basis for immunoassayer med fluorescens og antigen-indfangning[3,4,13]. Det *cryptosporidium* specifikke antigen (CSA), der påvises af dette kit, produceres af *cryptosporidium* organismer, når de formerer sig i værtens tarmkanal. Antigenet er specifikt for *cryptosporidium* og er ikke blevet påvist at krydsreagere med andre enteriske parasitter. Antigenet er stabilt over for transport gennem værtens tarmkanal såvel som over for rutinemæssige procedurer, der benyttes til at indsamle og transportere afføringsprøver til mikroskopiundersøgelse.

3. TESTPRINCIP

ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay er et fastfase immunoassay til påvisning af CSA. Fortyndede afføringsprøver anbringes i mikrobrønde, der kan brækkes af, og på hvilke der er bundet anti-CSA antistof. Hvis der findes CSA, 'indfanges' det af det bundne antistof. Mikrobrøndene inkuberes og vaskes for at fjerne ubundet materiale. Enzymkonjugatet (monoklonalt anti-CSA antistof mærket med peberrodsperoxidaseenzym) tilsættes. Mikrobrøndene inkuberes og vaskes derefter for at fjerne ubundet enzymkonjugat. I en positiv reaktion binder CSA enzymkonjugatet til mikrobrønden. Substratet for enzymet, 3,3',5,5'-tetrametylbenzidin (TMB), tilsættes. I en positiv reaktion konverterer det enzym, der er bundet til mikrobrønden af CSA, substratet til et farvet reaktionsprodukt. Farvningen kan aflæses visuelt eller med spektrofotometri. I en negativ reaktion er der intet CSA, eller der er et utilstrækkeligt niveau af CSA til at binde enzymkonjugatet, og der udvikles ikke noget farvet reaktionsprodukt.

4. SYMBOLFORKLARING

REF	Katalognummer
IVD	*In vitro* diagnostisk medicinsk udstyr
Σ N	Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests
	Se brugsanvisningen
8°C 2°C	Opbevaringstemperatur
LOT	Batchnummer (partinummer)
	Anvendes senest (udløbsdato)
	Producent
DILUTED SAMPLE	Fortyndet prøve

5. KITTETS INDHOLD, KLARGØRING TIL BRUG SAMT OPBEVARING

ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay indeholder tilstrækkeligt med reagenser til udførelse af Σ 24 eller Σ 96 tests.

Se også **Forholdsregler,** afsnit **6**.

Udløbsdatoen for det enkelte kit er angivet på emballagens mærkat.

Opbevar alle dele ved 2 til 8 °C.

Inden brug skal alle reagenser bringes til stuetemperatur

(20 - 25 °C) og blandes forsigtigt. Stil ubrugte reagenser tilbage i køleskab efter brug.

Alle reagenser med undtagelse af vaskebufferen leveres i brugskoncentration. Reagenser kan dispenseres direkte fra dråbeflaskerne eller hældes ud til brug sammen med multikanalspipetter. Hvis der er hældt for meget reagens op, skal det overskydende reagens kasseres. Overskydende reagens må ikke hældes tilbage i flasken.

Brugsanvisning
Overførselspipetter
Holder og låg til mikropladestrimler
Procedurekort

MICROTITRATION PLATE **Mikroplade*** (8 brønde/strimmel)
3 strimler (R2454024) eller 12 strimler (R2454096) belagt med kaninanti-CSA antistoffer. Ubrugte mikropladestrimler skal opbevares i folieposen, som indeholder tørremiddel, for at undgå fugt.

CONJUGATE **Enzymkonjugat***
Én dråbeflaske med 5 ml (R2454024) eller 25 ml (R2454096) peberrodsperoxidase mærket med monoklonalt museanti-CSA med bovinserum og antimikrobielt stof.

CONTROL + **Positiv kontrol**
Én dråbeflaske med 4 ml *Cryptosporidium* oocyst ekstrakt i en bufferopløsning med antimikrobielt stof.

CONTROL – **Negativ kontrol**
Én dråbeflaske med 4 ml bufferopløsning med et rødt farvestof og antimikrobielt stof.

SAMPLE DILUENT **Prøvefortyndingsbuffer**
Én flaske med 35 ml (R2454024) eller 120 ml (R2454096) bufferopløsning med kaninserum, et rødt farvestof og antimikrobielt stof.

WASH BUFFER (x10) **Vaskebuffer**
Én flaske med 50 ml (R2454024) eller 120 ml (R2454096) (x10) koncentreret bufferopløsning med antimikrobielt stof.

Fortynd (x10) vaskebufferkoncentrat til (x1) ved at tilsætte 1 del koncentrat til 9 dele destilleret eller deioniseret vand. Fortyndet vaskebuffer er stabil i op til 1 måned, når det opbevares ved 2 - 8 °C.

SUBSTRATE TMB **Farvestof**
Én dråbeflaske med 12 ml (R2454024) eller 25 ml (R2454096) 3,3',5,5'-tetrametylbenzidin (TMB) i buffer.

Farvestoffet bør opbevares i og anvendes fra den lysbeskyttende flaske, som det leveres i. Hvis en afmålt portion fjernes fra den oprindelige flaske af en eller anden grund, må ubenyttet farvestof ikke hældes tilbage i den oprindelige flaske.

STOP SOLUTION **Stopopløsning**
Én dråbeflaske med 12 ml 0,46 mol/l svovlsyre.

***Bemærk:** Bland ikke reagenser fra kit med forskellige partinumre.

6. FORHOLDSREGLER

IVD

Reagenserne er kun til *in vitro* diagnostik.

Må kun anvendes af uddannet personale.

Se sikkerhedsdatabladet og produktmærkningen vedrørende oplysninger om potentielt farlige komponenter.

OPLYSNINGER OM SUNDHED OG SIKKERHED

6.1 Reagenser er fremstillet af biologisk materiale og skal håndteres som potentielt smittefarligt materiale. Skal bortskaffes som smittefarligt materiale.

6.2 Pipettér ikke materialer med munden. Brug engangshandsker og beskyttelsesbriller ved håndtering af prøver og udførelse af assay. Vask hænderne grundigt, når arbejdet er færdigt.

6.3 Prøver kan indeholde potentielt smittefarlige materialer og bør håndteres i overensstemmelse hermed, se f.eks. anbefalingerne vedrørende Biosafety Level 2 i CDC/NIH manualen "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", 5th Edition.

6.4 Vaskebuffer indeholder potentielt hudirriterende stof (< 1% v/v). Undgå kontakt med huden. Brug engangshandsker af vinyl eller nitril.

6.5 Bortskaf brugt vaskebuffer i passende beholdere til hospitalsaffald.

ANALYTISKE FORHOLDSREGLER

6.6 Alle anvisninger i nærværende brugsanvisning skal læses og følges omhyggeligt.

6.7 Reagenser leveres i den nødvendige brugskoncentration med undtagelse af vaskebufferkoncentratet. Undlad at fortynde reagenser undtagen i tilfælde, hvor instruktionerne angiver fortynding.

6.8 Reagenser må ikke anvendes efter udløbsdatoen. Udløbsdatoen er angivet på etiketten på det enkelte reagens. Det kan påvirke resultaternes nøjagtighed, hvis reagenser bruges efter udløbsdatoen.

6.9 Følgende almindelige reagenser kan bruges sammen med hele ProSpecT produktserien: vaskebuffer, farvestof og stopopløsning.

6.10 Mikrobiel kontaminering af reagenser kan give nedsat assay-nøjagtighed. Undgå mikrobiel kontaminering af reagenser ved at bruge sterile engangspipetter, når afmålte portioner tages fra flasker med reagens.

6.11 Reagenser og prøver skal bringes til stuetemperatur (20 - 25 °C) inden brug.

6.12 Mikropladestrimler skal opbevares i den genlukkelige foliepose med tørremiddel, så de beskyttes mod fugt.

6.13 Afføringsprøver skal blandes grundigt før behandling af prøven for at sikre, at prøven er repræsentativ for materialet. UNDLAD AT KONCENTRERE PRØVER FØR ANALYSE.

6.14 Farvestoffet er lysfølsomt. Hvis reagenset udsættes for lys og udvikler farvning, skal det kasseres.

6.15 Personer, der er farveblinde eller har nedsat syn, kan muligvis ikke aflæse testresultatet visuelt og bør derfor benytte spektrofotometriske målinger ved tolkning af resultater.

6.16 Reagenserne skal tilsættes til testbrøndene i samme rækkefølge under hele proceduren. For at undgå kontaminering må flaskens spids ikke komme i berøring med væsken i brøndene.

6.17 Der skal omhyggeligt tages tid på hver inkubation. Start tidtagningen, når der er tilsat reagens til den sidste brønd på hver mikroplade, der testes. For at opnå nøjagtig tidtagning må der ikke arbejdes med mere end tre 96-brøndsplader ad gangen. Manglende overholdelse af den fastlagte procedure kan ændre assay-kvaliteten.

6.18 Det er vigtigt at holde dråbeflaskerne lodret, og at dråben dannes ved dysens spids. Hvis dysen bliver våd, vil der blive dannet en dråbe med forkert volumen omkring enden og ikke ved spidsen. Hvis dette sker, skal dysen tørres, før arbejdet fortsættes.

7. INDSAMLING AF FÆCESPRØVER

Prøver, der er indsamlet til rutinemæssig undersøgelse for ova og parasitter, kan bruges sammen med ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay. Afføringsprøver bør indsamles i rene, tætte plastbeholdere.

FRISK Ubehandlede afføringsprøver skal opbevares ved 2 - 8 °C og testes inden for 48 timer.

FROSSEN Hvis det ikke er muligt at teste friske prøver inden for 48 timer, skal de nedfryses ved -20 til -70 °C.

KONSERVERET Afføringsprøver behandlet med 10% formalin, MF- eller SAF-fiksativer kan nedkøles (2 - 8 °C) eller opbevares ved stuetemperatur (20 - 25 °C) og bør testes inden for 2 måneder efter indsamlingen.

CARY BLAIR Afføringsprøver, der er indsamlet i Cary Blairs transportmedium (eller tilsvarende), bør nedkøles eller fryses og testes inden for 1 uge efter indsamlingen. Afføringsprøver, der er blevet koncentreret eller behandlet med PVA-fiksativer, er ikke velegnede til brug.

VATPIND/BLE Afføringsprøver, der stammer fra vatpinde med rektalskrab og bleer, kan bruges sammen med ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay. Bemærk, at brug af superabsorberende bleer ikke er acceptabelt.

8. TESTPROCEDURE

MEDFØLGENDE NØDVENDIGE MATERIALER

Se **Kittets indhold**, afsnit **5**

NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER

Beholdere til indsamling af afføringsprøver
Stopur, der måler i minutter
Vaskeflaske til vaskebuffer
Destilleret eller deioniseret vand

VALGFRI MATERIALER, DER IKKE MEDFØLGER

Mikropladelæser, der kan aflæse 450 nm eller 450/620 til 650 nm
Applikatorpinde med bomulds- eller rayonspids
Mikropipette til afgivelse af volumener op til 200 µl
Engangstestrør i plast eller glas
Hvirvelmikser med pladeadapter eller pladeryster

PROCEDURE

8.1 Åbn folieposen, tag det ønskede antal mikropladestrimler ud, og sæt dem i en holder til mikropladestrimler. Brug én brønd til den negative kontrol og én til den positive kontrol. Hvis der anvendes mindre end 8 brønde, skal det nødvendige antal brønde brækkes af en strimmel. Læg de ubrugte brønde i folieposen med tørremiddel. LUK POSEN OMHYGGELIGT FOR AT HINDRE FUGT, OG LÆG DEN TILBAGE I KØLESKABET.

8.2 Prøver kan tilsættes direkte i brøndene eller for-fortyndes i rør før tilsætning i brøndene. For-fortyndede prøver kan opbevares ved stuetemperatur (20 - 25 °C) i 8 timer eller ved 2 - 8 °C i 48 timer før testning (se herunder). Vælg én af disse to metoder: Se boks "**A**" for fortynding i brønd. Se boks "**B**" for fortynding i rør.

A Fortynding i brønde

1 **Ukonserverede faste prøver**: Sæt etiket på ét rør for hver prøve. Tilsæt **0,4 ml** prøvefortyndingsbuffer (Specimen Dilution Buffer - SDB) til hvert rør. Dæk **1 vatpind** med prøvemateriale og bland det grundigt i prøvefortyndingsbufferen. Pres så meget væske ud som muligt, og kassér vatpinden. Stik en overførselspipette i røret.

2 **Konserverede eller vandige ukonserverede prøver:** Bland ved at ryste prøveindsamlingsbeholderne. Det er ikke nødvendigt med yderligere klargøring.

3 Tilsæt **4 dråber** negativ kontrol til brønd A1. Tilsæt **4 dråber** positiv kontrol til brønd B1.

4 Tilsæt **100 µl** prøvefortyndingsbuffer til hver prøvebrønd.

5 Tilsæt **2 dråber** af hver prøve til en brønd ved hjælp af overførselspipetter. Bemærk: Anbring overførselspipetternes åbning et lille stykke inde i brøndene for at undgå at stænke i tilstødende brønde.

6 **GÅ TIL TRIN 8.3**

B Fortynding i rørene

1 **Ukonserverede faste prøver:** Sæt etiket på ét rør for hver prøve. Tilsæt **1 ml** prøvefortyndingsbuffer (Specimen Dilution Buffer - SDB) til hvert rør. Dæk **1 vatpind** med prøvemateriale, og omrør kraftigt i prøvefortyndingsbufferen. Pres så meget væske ud som muligt, og kassér vatpinden. Stik en overførselspipette i hvert rør.

2 **Konserverede eller vandige ukonserverede prøver:** Sæt etiket på ét rør for hver prøve. Tilsæt **1 ml** prøvefortyndingsbuffer til hvert rør. Bland prøverne ved at ryste prøveindsamlingsbeholderne. Træk **0,3 ml** op ved hjælp af overførselspipetter (tredje mærke fra pipettens spids). Tøm prøven ud i prøvefortyndingsbufferen. Bland ved at trække op og ned én gang. Lad overførselspipetterne blive i rørene. **Fortyndede prøver kan opbevares i 8 timer ved stuetemperatur (20 - 25 °C) eller i 48 timer ved 2 - 8 °C**

3 Tilsæt **4 dråber** negativ kontrol til brønd A1.

4 Tilsæt **4 dråber** positiv kontrol til brønd B1.

5 Tilsæt **0,2 ml** (andet mærke fra pipettens spids) af hver prøve til en brønd ved hjælp af overførselspipetter. Bemærk: Anbring overførselspipetternes åbning et lille stykke inde i brøndene for at undgå at stænke i tilstødende brønde.

6 **GÅ TIL TRIN 8.3**

8.3 **Dæk** mikropladen og inkubér ved stuetemperatur (20 - 25 °C) i **60 minutter**. Start tidtagningen efter tilsætning af sidste prøve.

8.4 Ryst eller aspirér indholdet ud af brøndene. Vask brøndene ved at fylde hver brønd med **fortyndet** vaskebuffer (~350 - 400 µl/brønd). Ryst eller aspirér al væske ud af brøndene efter hver vask. Brøndene skal vaskes i alt **3 gange**. Efter den sidste vask fjernes indholdet, og pladen aspireres eller bankes på rene papirhåndklæder. Fjern så meget vaskebuffer som muligt, men lad ikke brøndene tørre ud på noget tidspunkt.

8.5 Tilsæt **4 dråber** (200 µl) enzymkonjugat til hver brønd.

8.6 **Dæk** mikropladen og inkubér ved stuetemperatur (20 - 25 °C) i **30 minutter**.

8.7 Udryst eller aspirér og vask hver brønd **5 gange** som i Trin 8.4.

8.8 Tilsæt **4 dråber** (200 µl) farvestof til hver brønd.

8.9 **Dæk** mikropladen og inkubér ved stuetemperatur (20 - 25 °C) i **10 minutter**.

8.10 Tilsæt **1 dråbe** (50 µl) stopopløsning til hver brønd. Knips forsigtigt på brøndene, eller brug en hvirvelmikser, indtil den gule farve er ensartet. Aflæs reaktionerne inden for **10 minutter** efter tilsætning af stopopløsningen.

8.11 Aflæs visuelt eller med spektrofotometer ved 450 nm (én bølgelængde) eller 450/620 til 650 nm (to bølgelængder).

9. KVALITETSKONTROL

Positiv og negativ kontrol skal gennemføres, hver gang testen udføres. De positive og negative kontroller fungerer som både reagens- og procedurekontroller. Hensigten med kontrollerne er at monitorere for væsentlige reagensfejl. Den positive kontrol vil ikke sikre nøjagtighed ved assay-cut-off.

Den optiske densitet (O.D.) af den negative kontrol skal være ≤ 0,100 ved 450 nm eller < 0,070 ved 450/620 til 650 nm. Den negative kontrol skal være farveløs ved visuel aflæsning. Hvis der i den negative kontrol er gul farve svarende til 1+ eller mere på procedurekortet, skal testen gentages med stor omhyggelighed ved vaskeproceduren.

Den positive kontrols O.D. skal være ≥ 0,300 ved 450 nm eller 450/620 til 650 nm, når O.D. for den negative kontrol er fratrukket, og den skal være lig med eller større end 2+ reaktionen ved visuel aflæsning. Hvis den gule farve i den positive kontrol er svagere end 2+ på procedurekortet, skal teknisk assistance tilkaldes.

10. RESULTATER

Se vedlagte procedurekort vedrørende tolkning af farver.

VISUEL

10.1 Aflæs testresultaterne ved at sammenligne med reaktionsfarverne på procedurekortet.
Positiv: gul farve med mindst 1+ intensitet
Negativ: farveløs

10.2 Tolkning af visuelle resultater:
Positiv: Hvis der udvikles gul farve med mindst 1+ intensitet i prøvebrønden, indeholder prøven CSA, og testen er positiv.
Bemærk: Tests med svag gul farve (mindre end 1+) skal gentages.
Negativ: En farveløs reaktion er et negativt resultat og indikerer, at der ikke er CSA i den testede prøve, eller at niveauet af CSA i prøven er for lavt til at kunne påvises.

SPEKTROFOTOMETRI

10.3 Aflæs resultaterne ved én (450 nm) eller to (450/620 til 650 nm) bølgelængder.

10.4 Aflæs den optiske densitet (O.D.) for den negative kontrol.

10.5 Træk O.D. for brønden med den negative kontrol fra O.D. aflæsningerne for brønden med den positive kontrol og for testbrøndene, før resultaterne tolkes.
Bemærk: Aflæsninger kan sættes til blank på brønden for den negative kontrol, så O.D. for brønden med den negative kontrol automatisk trækkes fra alle de andre aflæsninger. Hvis aflæseren ikke har denne funktion: Indstil til blank på luft, og træk O.D. for brønden med den negative kontrol fra O.D. aflæsningerne for brønden med den positive kontrol og testbrøndene, før resultaterne tolkes.

10.6 Aflæs testresultaterne:
Positiv: O.D. for ≥ 0,050 blank-værdi
(dvs. efter at O.D. for den negative kontrol er fratrukket)
Negativ: O.D. for < 0,050 blank-værdi
(dvs. efter at O.D. for den negative kontrol er fratrukket)

10.7 Tolkning af spektrofotometriske resultater:
Positiv: Hvis blank-værdi O.D. aflæsningen er lig med eller større end 0,050 i prøvebrønden, indeholder prøven CSA, og testen er positiv.
Negativ: Hvis blank-værdi O.D. er mindre end 0,050, er det et negativt resultat og indikerer, at der ikke er CSA i den testede prøve, eller at niveauet af CSA i prøven er for lavt til at kunne påvises.
***Bemærk:** Brønde, der måtte være visuelt klare, men giver en O.D. aflæsning, der ikke stemmer med den visuelle tolkning, skal betragtes som en afvigelse og undersøges for forekomsten af bobler, småpartikler i brønden eller en uigennemsigtig film på brøndens bund. Filmen kan fjernes ved at aftørre undersiden af brønden, hvorefter O.D. skal aflæses igen. Hvis afvigelsen mellem visuel aflæsning og O.D. aflæsning varer ved, skal testen gentages.

11. TESTENS BEGRÆNSNINGER

Gyldigheden af de resultater, der opnås med ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay, afhænger af, at kontrolreaktionerne fungerer som forventet. Se **Kvalitetskontrol**, afsnit **9**.

Et negativt testresultat udelukker ikke muligheden for tilstedeværelse af *Cryptosporidium* og kan forekomme, når antigenniveauet i prøven er under testens niveau for påvisning. Korrelation mellem mængden af antigen i en prøve og den kliniske præsentation er ikke blevet påvist.

Som det gælder for alle IN VITRO diagnostiske tests, skal resultaterne tolkes af klinikeren sammen med kliniske fund og/eller andre laboratorieresultater.

Korrekt indsamling og håndtering af prøver er af afgørende betydning for at opnå optimal assay-ydelse. Optimale testresultater opnås med prøver, der testes så hurtigt efter indsamlingen som muligt. Se **Indsamling af fæcesprøver** afsnit **7**.

ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay er klassificeret som meget kompleks.

12. FORVENTEDE VÆRDIER

Prævalensen af *Cryptosporidium* infektion varierer i forskellige populationer og geografiske områder. I USA er incidensen for *Cryptosporidium* omtrent 0,5 - 3,0% med højere prævalensfrekvenser hos børn[12] og hos homoseksuelle mænd[5,6].

13. PRÆSTATIONSKARAKTERISTIKA

SENSITIVITET OG SPECIFICITET

Der er gennemført kliniske undersøgelser for at evaluere ydelsen for ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay med brug af prøver, der er hentet fra store referencelaboratorier og på hospitalslaboratorier, som gennemførte O&P testning. Der blev testet i alt 214 prøver: 81 var positive for *Cryptosporidium* ifølge syrefast (acid-fast - AF) og 133 var negative. Fyrre af de *Cryptosporidium* negative prøver indeholdt andre organismer end *Cryptosporidium* ifølge AF eller O&P. Resultaterne af disse evalueringer vises herunder:

		Syrefast		
		+	-	
ProSpecT	+	81	0	
Cryptosporidium	-	0	133	
		81	133	214

Sensitivitet 81/81 = 100% (95,5 - 100%)
Specificitet 133/133 = 100% (97,3 - 100%)
Tal i parentes er 95% konfidensintervaller.

Der er gennemført kliniske undersøgelser til evaluering af ydelsen for ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay. Prøver blev hentet fra hospitalslaboratorier og CDC. De patientpopulationer, der var repræsenteret i prøvesamlingen, var symptomatiske patienter i populationer med normal prævalens, symptomatiske patienter i en population med høj prævalens (HIV positive) og asymptomatiske patienter fra en børnehavepopulation. Prøverne blev indsendt ukonserverede eller konserveret i 10% formalin eller SAF. Prøver blev testet for *Cryptosporidium* ifølge en af metoderne syrefast (acid-fast - AF) eller immunofluorescent farvning (IFA). Der blev testet i alt 212 prøver: 134 var positive for *Cryptosporidium* specifikt antigen (CSA) og 78 var negative. Resultaterne med ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay vises herunder:

		Syrefast		
		+	-	
ProSpecT	+	130	0	
Cryptosporidium	-	4	78	
		134	78	212

Sensitivitet 130/134 = 97% (92,5 - 99,2%)
Specificitet 78/78 = 100% (95,4 - 100%)
Tal i parentes er 95% konfidensintervaller.

En prospektiv undersøgelse blev gennemført på et stort storbyhospital. Alle prøver, der blev indsendt til syrefast farvning for *Cryptosporidium* over en periode på 4 måneder, indgik i undersøgelsen. Prøverne var ukonserverede og frosne ved -20 °C før testning med ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay. Resultaterne af den indledende test og de bearbejdede data vises herunder. Data blev behandlet ved gentagen testning af 14 AF-negative/CSA-positive prøver. Seks af de fjorten var reproducerbart positive for CSA. Undersøgelser af specifik inhibering med antistof mod CSA viste mere end 50% inhibering i alle 6 prøver. Disse 6 prøver betragtes som sandt positive i de behandlede data.

		Syrefast		Behandlet		
		+	-	+	-	
ProSpecT	+	28	14	34	8	
Cryptosporidium	-	1	335	1	335	
		29	349	35	343	378

Sensitivitet 28/29 = 97% (82,2 - 99,9%) 34/35 = 97% (85,1 - 99,9%)
Specificitet 335/349 = 96% (93,4 - 97,8%) 335/343 = 98% (95,5% - 99,0%)
Tal i parentes er 95% konfidensintervaller.

ANALYTISK SENSITIVITET

ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay påviser ca. 20 nanogram/ml CSA.

REPRODUCERBARHED

Inter-assay eller kørsel-til-kørsel koefficienten for variation (CV) for ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay blev evalueret ved at vælge 10 positive prøver med varierende optisk densitet. Hver prøve blev testet i 10 brønde pr. dag i fem dage. Den gennemsnitlige inter-assay CV var 10,6%.

Intra-assay eller inden-for-kørsel CV blev evalueret ved at teste 24 brønde med hver 5 positive prøver. Den gennemsnitlige intra-assay CV var 2,52%.

KRYDSREAKTIVITET

ProSpecT Cryptosporidium Microplate Assay blev testet med afføringsprøver, der var konstateret O&P-positive for en række fækale parasitter. Der blev ikke observeret krydsreaktivitet i forbindelse med nogen af de herunder nævnte smitstoffer.

Ascaris lumbricoides (2)
Blastocystis hominis (4)
Chilomastix mesnili (1)
Dientamoeba fragilis (4)
Endolimax nana (3)
Entamoeba coli (6)
Entamoeba hartmanni (2)
Entamoeba histolytica (5)
Giardia lamblia (5)
Hymenolepis nana (2)
Iodamoeba butschlii (2)
Isospora belli (2)
Strongyloides stercoralis (2)
Taenia solium (1)
Trichuris trichiura (1)

Tal i parentes angiver antallet af testede prøver.

14. LITTERATURLISTE

1. **Alpert, G. et al., 1986.**
Outbreak of Cryptosporidiosis in a Day-Care Centre.
Pediatrics 77(2):152-157.

2. **Anon. 1984.**
Cryptosporidiosis among children attending day-care centres - Georgia, Pennsylvania, Michigan, California, New Mexico.
Morbid. Mortal. Weekly Rep. 33(42):599-601.

3. **Arrowood, M.J. and C.R. Sterling, 1989.**
Comparison of Conventional Staining Methods and Monoclonal Antibody-based Methods for *Cryptosporidium* Oocyst Detection.
J. Clin. Microbiol. 27(7):1490-1495.

4. **Chapman, P.A., B.A. Rush and J. McLauchlin, 1990.**
An enzyme immunoassay for detecting *Cryptosporidium* in faecal and environmental samples.
J. Med. Microbiol. 32:233-237.

5. **D'Antonio, R.G. et al., 1985.**
A waterborne outbreak of cryptosporidiosis in normal hosts.
Ann. Intern. Med. 103:886.

6. **Dubey, J.P., C.A. Speer and R. Fayer, eds., 1990.**
Cryptosporidiosis of Man and Animals.
CRC Press.

7. **Gallaher, M.M. et al., 1989.**
Cryptosporidiosis and Surface Water.
Am. J. Public Health 79(1):39-42.

8. **Hayes, E.B. et al., 1989.**
Large Community Outbreak of Cryptosporidiosis Due to Contamination of a Filtered Public Water Supply.
N. Eng. J. Med. 320(21):1372-1376.

9. **Leech, J.H., M.A. Sande and R.K. Root, eds., 1988.**
Parasitic Infections.
Churchill Livingstone.

10. **Navin, T.R. and A.M. Hardy, 1984.**
Cryptosporidiosis in Patients with AIDS.
J. Infect. Dis. 155:150.

11. **Stehr-Green, J.K. et al., 1987.**
Shedding of Oocysts in immunocompetent individuals infected with *Cryptosporidium*.
Am. J. Trop. Med. 1 Hyg 36(2):338-342.

12. **Taylor, J.P. et al., 1985.**
Cryptosporidiosis outbreak in a day-care centre.
Am. J. Dis. Child. 139:1023-1025.

13. **Ungar, BLP. 1990.**
Enzyme-linked immunoassay for detection of *Cryptosporidium* antigens in faecal specimens.
J. Clin. Microbiol., 28:2491.

ProSpecT™ er et registreret varemærke tilhørende Remel Inc.

CE

Oxoid Ltd Wade Road Basingstoke Hants, RG24 8PW UK

For teknisk assistance kontakt den lokale distributør.

IFU X7591A Revideret April 2012