

ProSpect[®] Microplate Assays

ProSpect[®] Microplate Assays REMEL aumentam a produtividade das retinas laboratoriais, permitindo testes simultâneos de 5 diferentes antígenos (entéricos, toxinas e vírus) com relevantes benefícios:

- Reagentes comuns para todos os kits
- Resultados em menos de duas horas
- ELISA com poucos passos
- Incubação em temperatura ambiente
- Alta sensibilidade e especificidade
- Leitura visual de fácil interpretação
- Anticorpos monoclonais: maior sensibilidade e especificidade
- Resultados não dependem de microrganismos viáveis
- Uso de pequenos volumes de amostras
- Confiança e qualidade OXOID / REMEL

ProSpect[®] maximiza a eficiência operacional, onde um técnico pode testar simultaneamente vários antígenos de uma mesma amostra.

ProSpect[®] permite o uso de reagentes comuns entre os 5 kits disponíveis.

ProSpect[®] permite resultados no mesmo dia, envolvendo apenas 5 minutos de manipulação.

Kits disponíveis:

ProSpect[®] <i>C. difficile</i> Toxina A/B (96 testes)	R244596
ProSpect[®] Giardia (96 testes)	R2458096
ProSpect[®] <i>Entamoeba histolytica</i> (96 testes)	R2456096
ProSpect[®] Cryptosporidium (96 testes)	R2454096
ProSpect[®] Rotavirus (96 testes)	R24920967

INSTRUÇÕES DE USO
PROSPECT CRYPTOSPORIDIUM KIT (CÓD. 2454024 – 24 testes / CÓD. 2454096 – 96 testes)
Ensaio ImunoEnzimático para detecção de antígeno *Cryptosporidium* sp em Microplaca

INTRODUÇÃO

O Antígeno específico do *Cryptosporidium* (CSA) já foi associado à infecções por *Cryptosporidium* sp, sendo utilizado como base de imunoensaio fluorescentes e de captura de antígeno (3, 4). O CSA é produzido pelo *Cryptosporidium* sp à medida que este parasita se multiplica no trato intestinal do hospedeiro. Tal antígeno não apresenta reação cruzada com outros parasitas entéricos e é estável no transporte através do trato intestinal do hospedeiro, como também durante a maioria dos procedimentos de rotina utilizados para coletar e transportar amostras para exame microscópico.

UTILIZAÇÃO

CRYPTOSPORIDIUM KIT Ensaio ImunoEnzimático para *Cryptosporidium* sp em Microplaca é um imunensaio enzimático destinado à detecção qualitativa do CSA em extratos aquosos de amostras de fezes.

PRINCÍPIO DE AÇÃO DO TESTE

CRYPTOSPORIDIUM KIT Ensaio ImunoEnzimático para *Cryptosporidium* sp em Microplaca utiliza anticorpos fixados em cavidades em um imunensaio enzimático (sanduíche de fase sólida), a fim de detectar o antígeno CSA pela utilização de anticorpo anti-CSA.

Amostras diluídas de fezes são colocadas em cavidades de microplaca nos quais o anticorpo anti-CSA está ligado. Se o CSA estiver presente, ele é "capturado" pelo anticorpo ligado. As cavidades são incubadas e lavadas para remover o material não-ligado. O anticorpo anti-CSA, marcado com a enzima peroxidase e o substrato da enzima peroxidase, o TMB, são acrescentados em sequência. As cavidades são incubadas e lavadas para remover o anticorpo marcado não-ligado.

Numa reação positiva, o CSA liga o anticorpo marcado com a enzima ao anticorpo aderido a cavidade e este complexo anticorpo-antígeno-anticorpo marcado desenvolve uma coloração atribuída pela adição do TMB, que pode ser detectada visualmente ou através de Leitor de ELISA. Numa reação negativa, como não existem tais antígenos na amostra ou o nível desses antígenos presentes na amostra é insuficiente para ser detectado, não ocorre a formação do complexo anticorpo-antígeno-anticorpo marcado não havendo, portanto, o desenvolvimento de qualquer coloração.

MATERIAIS E REAGENTES NECESSÁRIOS PARA A EXECUÇÃO DO ENSAIO:

CRYPTOSPORIDIUM KIT Ensaio ImunoEnzimático para *Cryptosporidium* sp contém reagentes e materiais suficientes para realizar 24 ou 96 testes.

Reagentes (fornecidos):

	24 / 96 testes
Microplaca	8 cavidades por tira
Fixada com anticorpo anti-CSA de coelho	3 tiras /12 tiras
Conjugado Enzimático	1 frasco
Peroxidase de rabanete marcada com anti-CSA monoclonal de coelho contendo soro bovino e tимерosal 0,01%	5 ml/25 ml
Controle Positivo	1 frasco
Material fecal humano com tимерosal 0,02%	4,0 ml
Controle Negativo	1 frasco
Material fecal humano com tимерosal 0,02%	4,0 ml
Tampão para Diluição da Amostra	1 frasco
Solução tampoadora com tимерosal 0,02% e soro de coelho	35 ml/110 ml
Tampão para Lavagem	1 frasco
Solução tampoadora 10x concentrada com tимерosal 0,1%	50 ml/110 ml
Solução de Substrato	1 frasco
TMB em tampão	5 ml/25 ml
Solução Stop	1 frasco 6 ml
Ácido hidrocloreídico 0,5N (corrosivo)	

Materiais necessários fornecidos:
Suporte para microplaca 1 unid

Materiais necessários não fornecidos:

Recipiente para coleta das amostras de fezes

Swabs

Tubos de ensaio descartáveis

Dispensador para Tampão de Lavagem

Cronômetro

Água destilada ou deionizada

Materiais opcionais não fornecidos:

Leitor de ELISA (densidade ótica de 450nm)

Agitador de tubos (Vortex)

CUIDADOS DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

As datas de fabricação e validade deste kit aparecem no rótulo da embalagem. Não utilizar reagentes cuja data de validade tenha expirado.

Armazenar todos os reagentes, inclusive o Tampão para Lavagem concentrado entre 2 a 8° C. Devolver os reagentes não utilizados ao refrigerador ao completar o teste.

A Solução de Substrato é sensível à exposição à luz. Não usar reagente que tenha sido exposto à luz, tendo ocorrido o desenvolvimento de coloração azul. Caso seja retirada do frasco uma quantidade de Solução de Substrato, além da necessária para a execução do teste, a mesma não poderá ser devolvida ao frasco.

Devolver todos as cavidades e tiras não utilizados ao envelope contendo dessecante.

Este kit deverá ser transportado sob refrigeração.

PRECAUÇÕES DE CUIDADOS ESPECIAIS

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

O ensaio é um teste qualitativo para a detecção do antígeno específico de *Cryptosporidium* sp. A intensidade do desenvolvimento de coloração não se correlaciona com o nível de antígeno ou o grau de infecção.

As Amostras, Diluições das Amostras, Controles Positivos, Controles Negativos e Tiras de Microplaca devem ser manuseados utilizando normas padrão de materiais de perigo biológico. Métodos adequados de manuseio e disposição devem ser estabelecidos pelo laboratório. A Solução de Substrato contém tetrametilbenzidina (TMB). Evitar contato com a pele e mucosas. Se a solução de TMB entrar em contato com essas áreas, lavar imediatamente com água. Observar que a tetrametilbenzidina já foi descrita como análoga a benzidina não carcinogênica (17). **Ver cuidados de armazenamento e transporte.**

O Tampão para Lavagem, o Conjugado Enzimático, o Tampão para Diluição da Amostra e os Controles Positivos e Negativos contêm tимерosal que pode irritar a pele, os olhos e as mucosas. Em caso de contato, lave os olhos, pele ou mucosa com quantidade abundante de água.

A Solução Stop é corrosiva e deve ser manuseada com cuidado. Se esta solução entrar em contato com os olhos, pele, mucosa ou roupa, lavar imediatamente a área de contato.

Já foi observado que a contaminação das cavidades com amido ou talco pode catalisar a auto-oxidação da Solução de Substrato. Portanto, a possibilidade desta contaminação deve ser eliminada.

Utilizar pipetas ou ponteiros de pipetas descartáveis separadas para cada amostra, Controle ou Reagente a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.

Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.

NÃO reutilizar as cavidades.

Não utilizar substrato que apresente coloração azul antes de ser adicionado as cavidades.

O equipamento de lavagem, inclusive equipamento automatizado, deve ficar livre de contaminação microbiana, ser calibrado corretamente e mantido de acordo com as instruções do fabricante.

Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes. Evitar contaminação microbiana de reagentes e não utilize reagente que tenha sinais de contaminação ou precipitação.

Todos os reagentes, com exceção do Concentrado de Tampão para Lavagem são fornecidos em concentrações usuais fixas. A performance do ensaio pode ser afetada, se os reagentes forem modificados ou não forem armazenados nas condições recomendadas.

O Tampão para Lavagem é fornecido numa concentração de 10x, devendo ser diluído antes do uso. **Ver Procedimento de Ensaio - Informações Preliminares.**

Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.

Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes. Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

Pessoas daltônicas ou portadoras de qualquer outra deficiência visual que comprometa a diferenciação de cores talvez não consigam determinar visualmente o resultado do teste, devendo utilizar o Leitor de ELISA para a interpretação dos resultados.

COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS

Coleta das Amostras de Fezes

As amostras coletadas para o Exame Parasitológico de Fezes (EPF) podem ser utilizadas para o ProSpecT Ensaio ImunoEnzimático para *Cryptosporidium* em Microplaca.

As amostras devem ser coletadas em recipiente plástico limpo, à prova de vazamento. Amostras de fezes frescas e não tratadas devem ser armazenadas de 2 a 8° C e testadas dentro de 48 horas. Se as amostras frescas não puderem ser testadas dentro de 48 horas, as mesmas deverão ser congeladas de -20 a -70° C.

As amostras de fezes tratadas com fixadores formalina 10%, MF ou SAF podem ser refrigeradas (2 - 8° C) ou armazenadas à temperatura ambiente (15 - 30° C) e deverão ser testadas até 2 meses após a coleta.

Amostras de fezes coletadas em Meio de Transporte C&S, ou equivalente, devem ser refrigeradas ou congeladas e testadas até 1 semana após a coleta.

Amostras de fezes obtidas a partir de "swabs" retais ou frialdas são aceitáveis para utilização no **CRYPTOSPORIDIUM KIT** Ensaio ImunoEnzimático para *Cryptosporidium* sp em Microplaca .

Amostras de fezes concentradas ou tratadas com fixadores PVA não são adequadas para uso.

Preparo das Amostras para o Ensaio:

Antes de iniciar o preparo das amostras, ler o **Procedimento de Ensaio**.

As amostras podem ser colocadas diretamente nas cavidades ou pré-diluídas em tubos, antes de serem colocadas nas cavidades.

Amostras pré-diluídas podem ser mantidas à temperatura ambiente, durante 8 horas ou entre 2 a 8°C, durante 48 horas antes do teste.

Escolher um dos métodos a seguir:

Quadro A - Para diluição em cavidades

Quadro B - Para pré-diluição em tubos

A- Diluente em Cavidades

1. Amostras Sólidas Não Preservadas:

Rotular um tubo para cada amostra. Acrescentar 0,4 ml de Tampão para Diluição da Amostra (TDA) para cada tubo.

Revestir 1 "swab" com a amostra e misturar vigorosamente em TDA.

Retirar o máximo possível de fluido, descartando o "swab".

Colocar uma pipeta de transferência dentro do tubo.

2. Amostras Preservadas ou Amostras Aquosas Não Preservadas

Misturar, agitando os recipientes de coleta da amostra. Não é necessário qualquer outro tipo de preparação adicional.

3. Adicionar 4 gotas de Controle Negativo a cavidade A1.

Adicionar 4 gotas de Controle Positivo a cavidade B1.

4. Adicionar 100ul de TDA a cada cavidade da amostra.

5. Utilizando pipetas de transferência, adicionar 2 gotas de cada amostra a uma cavidade.

Observação: Colocar a abertura da pipeta de transferência dentro das cavidades para evitar espirrar nas cavidades adjacentes.

Seguir para o Procedimento do Teste (item 3)

B – Diluição em Tubos

1. Amostras Sólidas Não Preservadas:

Rotular um tubo para cada amostra.

Acrescentar 1 ml de TDA para cada tubo.

Revestir 1 "swab" com a amostra e agitar vigorosamente no TDA.

Retirar o máximo possível de fluido, descartando o "swab".

Colocar uma pipeta de transferência em cada tubo.

2. Amostras não Preservadas Aquosas ou Preservadas:

Rotular 1 tubo para cada amostra.

Colocar 1 ml de TDA em cada tubo.

Misturar as amostras, agitando os recipientes da coleta das amostras. Utilizando pipetas de transferência, pipetar até 0,3 ml (terceira marca a partir da ponta da pipeta).

Colocar a amostra no TDA.

Misturar com a pipeta, puxando e soltando uma vez.

Deixar as pipetas de transferência nos tubos.

Amostras diluídas podem ser guardadas durante 8 horas em temperatura ambiente ou 48 horas de 2 a 8° C.

3. Adicionar 4 gotas do Controle Negativo na cavidade A1.

4. Colocar 4 gotas do Controle Positivo na cavidade B1.

5. Utilizando pipetas de transferência, adicionar 0,2 ml (segunda marca a partir da ponta da pipeta) de cada amostra, a cada cavidade.

Observação: Colocar a abertura das pipetas de transferência para dentro das cavidades, a fim de evitar espirrar nas cavidades adjacentes.

Seguir para o Procedimento do Teste (item 3).

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Informações Preliminares

Ler cuidadosamente e seguir as instruções desta bula.

Deixar que os reagentes e amostras cheguem à temperatura ambiente (15-30°C) antes de iniciar o ensaio e devolver os reagentes não utilizados ao refrigerador após o término do teste.

Todos os reagentes, exceto o Tampão para Lavagem, são fornecidos prontos para o uso em frascos conta-gotas. Os reagentes podem ser dispensados diretamente do frasco conta-gotas ou através de pipetas multicanal. Se algum reagente dispensado sobrar, descartar o excesso. Não retorne nenhum reagente dispensado ao frasco conta-gotas.

Diluir o Tampão para Lavagem (de 10X para 1X concentrado), através da adição de 1 parte de concentrado para 9 partes de água destilada ou deionizada.

Adicionar todos os reagentes as cavidades do teste na mesma ordem durante todo o procedimento. Para evitar contaminação, não permitir que os frascos entrem em contato direto com o fluido das cavidades.

Cronometrar cada período de descanso com precisão. Iniciar a cronometragem adicionando o reagente à última cavidade em cada microplaca que está sendo testada. Qualquer que seja a forma escolhida de adição de reagentes as cavidades utilizá-la durante todo o procedimento do teste. Qualquer desvio do procedimento estabelecido poderá alterar a performance do ensaio.

PROCEDIMENTO:

Antes de iniciar o Procedimento de Ensaio, ler Preparo das Amostras para o Ensaio e Informações Preliminares.

1. Abrir o envelope de alumínio, retirar o número suficiente de cavidades para a realização do teste e colocá-los firmemente no suporte de tiras. Reservar uma da cavidade para o Controle Positivo e outro para o Controle Negativo. SELAR NOVAMENTE O ENVELOPE A FIM DE EXCLUIR UMIDADE E, EM SEGUNDA, DEVOLVÊ-LO AO REFRIGERADOR.
2. As amostras podem ser colocadas diretamente nas cavidades ou pré-diluídas em tubos, antes de serem colocadas nas cavidades. **Ver**

Preparo das amostras para o Ensaio.

3. Cobrir a placa e incubar a temperatura ambiente durante 60 minutos. Iniciar a cronometragem após a adição da última amostra.
4. Venter ou aspirar os conteúdos das cavidades para um recipiente com álcool fresco ou desinfetante à base de cloro, a fim de descartar os resíduos. Lavar completamente, enchendo cada cavidade com Tampão para Lavagem (± 350 - 400 ul/ cavidade).
Venter ou aspirar todo o fluido das cavidades após cada lavagem.
Lavar um total de 3 vezes. Após a última lavagem venter todo o conteúdo das cavidades e bater fortemente a microplaca invertida contra um papel toalha. Remover a maior quantidade possível de Tampão para Lavagem sem, contudo, permitir que as das cavidades sequem em momento algum.
5. Acrescentar 4 gotas (200 ul) do Conjugado Enzimático (tampa azul) em cada cavidade.
6. Incubar a microplaca à temperatura ambiente durante 30 minutos.

7. Decantar e lavar bem cada cavidade 5 vezes, conforme realizado no passo 4.

8. Acrescentar 4 gotas (200 ul) de Solução de Substrato a cada cavidade.

9. Incubar a microplaca à temperatura ambiente durante 10 minutos.

10. Acrescentar 1 gota (50 ul) da Solução Stop a cada cavidade. Agitar levemente as cavidades ou utilizar um vortex de maneira a assegurar que o conteúdo das cavidades esteja completamente homogeneizado (cor) antes da leitura dos resultados.

Fazer a leitura das reações até 10 minutos após a adição da Solução Stop. Ler visualmente ou em Leitor de ELISA (a 450 nm).

RESULTADOS

VISUAL:

Para a interpretação de cores, consultar o Cartão de Referência de Coloração do Ensaio.

1. Ler o Controle Negativo. A reação deve ser incolor. Se for constatada a cor amarela igual ou superior a 1+ do Cartão de Referência de Coloração do Ensaio, o teste deverá ser repetido com atenção ao procedimento de lavagem.
2. Ler o Controle Positivo. A intensidade da cor no Controle Positivo deve ser igual ou superior à reação 2+ do Cartão de Referência de Coloração do Ensaio.
3. Ler os resultados do teste, comparando com as cores de reação do Cartão de Referência de Coloração do Ensaio.

Positivo: cor amarela de intensidade de 1+, no mínimo

Negativo: incolor

4. Interpretação de resultados visuais:

Positivo: Se a cor amarela de intensidade mínima 1+ aparecer na cavidade teste, a amostra contém CSA o teste é positivo.

Observação: Testes com cor amarela fraca (inferior a 1+) deverão ser repetidos.

Negativo: Uma reação incolor é um resultado negativo e indica que o CSA não está presente ou que o CSA existe a níveis indetectáveis na amostra.

LEITOR DE ELISA:

1. Assegurar que os fundos das cavidades estejam limpos antes da leitura, verificando que nenhum corpo estranho esteja presente nas cavidades. Colocar o espectrofotômetro (leitor de microplaca) para leitura a 450 nm.

2. Fazer a leitura da densidade óptica (D.O.) para o Controle Negativo. Para um teste válido, a D.O. do Controle Negativo deve ser de 0,100 ou inferior. Se a D.O. for maior que 0,100, os resultados são inválidos e o teste deverá ser repetido com atenção cuidadosa para o procedimento de lavagem.

3. Subtrair a D.O. da cavidade de Controle Negativo das leituras de D.O. da cavidade de Controle Positivo e das cavidades teste antes de interpretar os resultados.

Observação: Os leitores podem ser zerados na cavidade de Controle Negativo para que a D.O. da cavidade de Controle Negativo seja subtraída automaticamente das demais leituras. Se o leitor não tiver esta capacidade, zerar ao ar e subtrair a D.O. da cavidade de Controle Negativo das leituras de D.O. da cavidade de Controle Positivo e de cada uma das cavidades de teste antes de interpretar os resultados.

4. A D.O. para o Controle Positivo deverá ser 0,300 ou maior, após a subtração da D.O. do Controle Negativo. Se a D.O. for inferior a 0,300, o teste deverá ser repetido.

5. Ler os resultados do teste:

Positivo: D.O. \geq 0,050 do valor zerado (i.e., após a subtração da D.O. do Controle Negativo)

Negativo: D.O. $<$ 0,050 do valor zerado (i.e., após a subtração da D.O. do Controle Negativo)

6. Interpretação dos resultados do Leitor de ELISA:

Positivo: Se a leitura da D.O. do valor zerado for igual ou superior a 0,050 na cavidade teste, a amostra contém CSA e o teste é positivo.

Negativo: Uma leitura da D.O. do valor zerado inferior a 0,050 é um resultado negativo e indica que CSA não está presente ou que o CSA existe a níveis indetectáveis na amostra.

Limitações do Ensaio

Apenas um ensaio diagnóstico não deve ser utilizado como base única para se chegar a uma conclusão clínica. Os resultados devem ser fundamentados na correlação entre os resultados do ensaio diagnóstico, os sintomas e o quadro clínico geral do paciente. Quando resultados negativos forem obtidos para pacientes sintomáticos, novas amostras deverão ser coletadas e testadas.

CONTROLE DE QUALIDADE

Os Controles Positivos e Negativos devem ser incluídos a cada vez que o teste for realizado. O Controle Positivo e o Controle Negativo servem como controles de reagente e de procedimento.

VALORES EPIDEMIOLÓGICOS

A criptosporidiose foi reconhecida recentemente como uma doença humana importante em grande parte do mundo (6, 9). A prevalência de infecção por *Cryptosporidium* varia em populações diferentes em diferentes áreas geográficas. Nos Estados Unidos, a incidência de *Cryptosporidium* é de aproximadamente 0,5 - 3,0%, com taxas de prevalência superiores em crianças (12) e em homossexuais do sexo masculino (5, 6).

Os grupos específicos de risco incluem pessoas imunocomprometidas, especialmente os portadores de HIV, membros das famílias e parceiros sexuais de pacientes infectados, crianças e funcionários de creches, pessoas que lidam com animais e viajantes (6). Os sintomas agudos de criptosporidiose podem incluir a diarreia, cólicas abdominais, náusea e vômito, febre, mal-estar, problemas respiratórios que persistem de alguns dias a mais de um mês e que levam à infecção persistente ou à morte em pacientes com deficiência imunológica (6). A infecção por *Cryptosporidium* pode também ser assintomática.

CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE

Sensibilidade e Especificidade

Foram conduzidos estudos clínicos para avaliar o desempenho do **CRYPTOSPORIDIUM KIT** Ensaio ImunoEnzimático para *Cryptosporidium* sp em Microplaca. As amostras foram obtidas em laboratórios hospitalares e nos Centros de Controle de Doenças. Populações de pacientes representadas no pool de amostras consistiam de pacientes sintomáticos em populações de prevalência normal, pacientes sintomáticos em população de alta prevalência (HIV positivo) e de pacientes assintomáticos de uma creche. Foram utilizadas amostras não preservadas ou preservadas em formalina 10% ou SAF. As amostras foram testadas para *Cryptosporidium* através do ZIEHL-NEELEN modificado ou através de métodos imunofluorescentes (IF). Num total de 212 amostras testadas, 134 foram positivas para o Antígeno Específico de *Cryptosporidium* (CSA) e 78 foram negativas. Os resultados com o **CRYPTOSPORIDIUM KIT** Ensaio ImunoEnzimático para *Cryptosporidium* sp em Microplaca são apresentados abaixo:

	+	-
ProSpecT	130	0
<i>Cryptosporidium</i> -	4	78
	134	78

Sensibilidade
Especificidade

97%
100%

Foi conduzido um teste num grande hospital metropolitano. Todas as amostras submetidas ao ZIEHL-NEELEN modificado para *Cryptosporidium* dentro do período de 4 meses foram incluídas no estudo. As amostras eram não preservadas e congeladas a -20° C, antes do teste com o **CRYPTOSPORIDIUM KIT** Ensaio ImunoEnzimático para *Cryptosporidium* sp em Microplaca. Os resultados tanto do teste inicial como do reteste estão apresentados a seguir. Os dados foram concluídos através de teste repetido das 14 amostras ZIEHL-NEELEN modificado negativas/CSA positivas.

	ZIEHL_NEELEN		Retestes	
	+	-	+	-
ProSpecT	28	14	34	8
<i>Cryptosporidium</i> -	1	335	1	335
	29	349	35	343

Sensibilidade
Especificidade

97%
96%

97%
98%

Seis das 14 amostras ZIEHL-NEELEN modificado negativas /CSA positivas foram positivas de forma reprodutível para CSA. Estudos de inibição específica com anticorpo para CSA demonstraram inibição superior a 50% em todas as 6 amostras. Essas 6 amostras são consideradas positivas verdadeiras nos dados do reteste.

Sensibilidade Analítica

CRYPTOSPORIDIUM KIT Ensaio ImunoEnzimático para *Cryptosporidium* sp em Microplaca detecta aproximadamente 20 nanogramas/ml de CSA.

Reação Cruzada

CRYPTOSPORIDIUM KIT Ensaio ImunoEnzimático para *Cryptosporidium* sp em Microplaca foi testado com amostras de fezes com EPF positivo para várias parasitas intestinais. Não houve reação cruzada com qualquer dos agentes infecciosos relacionados abaixo:

<i>Ancilóstomo</i> (5)	<i>Entamoeba coli</i> (37)	<i>Giardia lamblia</i> (61)
<i>Ascaris lumbricoideis</i> (4)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (9)	<i>Hymenolepis nana</i> (3)
<i>Blastocystis hominis</i> (9)	<i>Entamoeba histolytica</i> (25)	<i>Iodamoeba butschlii</i> (28)
<i>Chilomastix mesnili</i> (5)	<i>Endolimax nana</i> (34)	<i>Strongyloides stercoralis</i> (1)
<i>Trichuris trichiura</i> (3)	<i>Dientamoeba fragilis</i> (8)	<i>Eimerius vermicularis</i> (1)
<i>Trichuris trichiura</i> (3)		

Os números em parênteses indicam a quantidade de amostras testadas.

Reprodutibilidade

O coeficiente de variação (CV) inter-ensaio do **CRYPTOSPORIDIUM KIT** Ensaio ImunoEnzimático para *Cryptosporidium* sp em Microplaca foi avaliado selecionando 4 amostras positivas com leituras de Densidade Óptica variadas. Cada amostra foi testada diariamente em 10 cavidades durante 5 dias consecutivos. A média do CV inter-ensaio foi de 7,8%.

Amostra	D.O. Média	Desvio Padrão	% CV
1	0,61	0,047	7,70
2	0,51	0,038	7,45
3	0,37	0,030	8,10
4	0,23	0,018	7,83

O coeficiente de variação intra-ensaio foi avaliado, testando 24 cavidades cada uma das 4 amostras positivas. A média de CV intra-ensaio foi de 4,6%.

Amostra	D.O. Média	Desvio Padrão	% CV
1	1,1	0,048	4,36
2	0,81	0,027	3,33
3	0,38	0,027	7,10
4	0,21	0,008	3,80

BIBLIOGRAFIA

1. Alpert, G. et al., 1986. Outbreak of Cryptosporidiosis in a day-care center. *Pediatrics*, **77**:152.
2. Anon., 1984. Cryptosporidiosis among children attending day-care centers - Georgia, Pennsylvania, Michigan, California, New Mexico. *Morbid. Mortal.*, **33**:989.
3. Arrowood, M.J., and Sterling, C.R., 1989. Comparison of conventional staining methods and monoclonal antibody-based methods for *Cryptosporidium* oocyst detection. *J. Clin. Microbiol.*, **27**:1490.
4. Chapman, P.A., Rush, B.A., and McLaughlin, J., 1990. An enzyme immunoassay for detecting *Cryptosporidium* in faecal and environmental samples. *J. Med. Micro.*, **32**:233.
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., Speer, C.A., and Fayer, R., eds., 1990. *Cryptosporidiosis of Man and Animals*. CRC Press.
7. Gallaher, M.M. et al., 1989. Cryptosporidiosis and surface water. *Am. J. Pub. Health*, **79**:39.
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**:1372.
9. Leech, J.H., Sande, M.A., and Root, R.K., eds., 1988. *Parasitic Infections*. Churchill Livingstone.
10. Navin, T.R. and Hardy, A.M., 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. Dis. Child.*, **140**:1213.
12. Taylor, J.P. et al., 1985. Cryptosporidiosis outbreak in a day-care center. *Am. J. Dis. Child.*, **139**:1023.
13. Holland, V.R., 1974. "Sater Substitute for Benzidine in Detection of Blood." *Tetrahedron* **30**:3299-3302.

EDIÇÃO INSTRUÇÃO DE USO: MARÇO/ 2003