

1 | OBJECTIFS

BIOSYNEX CryptoPS est un test immunochromatographique, rapide, à usage unique pour la détection semi-quantitative et la titration des antigènes capsulaires de *Cryptococcus sp.* dans le sérum, le plasma, le sang total et le LCR.

BIOSYNEX CryptoPS participe au diagnostic des infections cryptococciques, notamment en cas de méningite. Ce test est destiné à un usage diagnostique *in vitro* par des professionnels de santé uniquement.

BIOSYNEX CryptoPS peut être utilisé pour les objectifs suivants :

- diagnostic de l'infection à *Cryptococcus sp.* chez les patients symptomatiques
- identification des patients présentant une concentration élevée d'antigènes capsulaires dans le sang (sérum, plasma, sang total) par la visualisation de la ligne T2 de mauvais pronostic, ce qui peut être confirmé par la titration.
- diagnostic de l'infection à *Cryptococcus sp.* chez des patients asymptomatiques présentant un taux de CD4 inférieur à 200 cellules/ μ L.

2 | INTRODUCTION

La cryptococcose est une maladie opportuniste et cosmopolite due à une levure de l'espèce *Cryptococcus*, dont la plus courante en pathologie humaine est *Cryptococcus neoformans*. Les patients à haut risque sont les immunodéprimés (principalement les personnes infectées par le VIH et celles qui ont bénéficié récemment de greffes). L'infection se produit le plus souvent par inhalation des spores.

L'expression clinique la plus courante de la maladie est la méningoencéphalite. Il y a environ 1 million de nouveaux cas chaque année dans le monde entier dont 625 000 décès liés à la méningite cryptococcique¹. La grande majorité des cas (>70 %) se produit en Afrique Subsaharienne, suivie de l'Asie. La cryptococcose est la deuxième cause de mortalité chez les patients immunodéprimés (VIH, greffes).

3 | PRINCIPE DU TEST

BIOSYNEX CryptoPS est un test immunochromatographique à flux latéral pour la détermination semi-quantitative et la titration de l'antigène de *Cryptococcus sp.* dans le sérum, le plasma, le sang total et le LCR.

Le test utilise des anticorps spécifiques du polysaccharide capsulaire de *Cryptococcus sp.* (clone 18B7) qui sont fixés au niveau des lignes de test (T1 et T2). Pendant la procédure de test, les antigènes présents dans l'échantillon patient réagissent avec les anticorps anti-polysaccharides conjugués à des particules d'or, présents sur une partie non visible du test. Le complexe ainsi formé migre et interagit avec les anticorps fixés au niveau des lignes de test. La présence d'une ligne de couleur au niveau de la ou des lignes de test (T1 ou T1 et T2) indique un résultat positif tandis que l'absence de ligne de test indique un résultat négatif. La ligne T2 apparaîtra en cas de concentration élevée d'antigènes capsulaires.

Une ligne colorée apparaîtra toujours au niveau de la ligne de contrôle (C). Elle sert de contrôle procédural, confirmant la bonne migration.

4 | MATÉRIEL

Matériel fourni

- Cassettes test, emballées individuellement dans une pochette en aluminium avec un dessiccant
- Pipettes capillaires (MicroSafe® 20 μ L)
- Flacon compte-goutte de tampon
- Flacon de tampon pour le protocole de titration
- Flacon de contrôle positif
- Notice d'utilisation

Matériel requis, mais non fourni

- Minuteur
- Lancettes, lingettes alcoolisées et tampons stériles (pour le prélèvement de sang capillaire)
- Micropipette
- Tubes pour les dilutions (protocole de titration)
- Vortex

5 | CONSERVATION ET STABILITÉ

Conserver dans l'emballage d'origine à température réfrigérée ou ambiante (2-25 °C). Ce test est stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'emballage. Ne pas utiliser après la date d'expiration. Le test doit être conservé dans sa pochette hermétique jusqu'à l'emploi. Ne pas congeler les composants du kit.

6 | PRÉCAUTIONS

- Réservé au diagnostic *in vitro* professionnel.
- À usage unique. Ne pas réutiliser.
- Pour de meilleurs résultats, suivre scrupuleusement la procédure du test et les instructions de stockage.
- Le volume de l'échantillon à transférer dans la cupule d'échantillon (S) et le nombre de gouttes de tampon doivent être strictement respectés.
- Les échantillons prélevés à partir des tubes d'héparine peuvent donner un signal plus faible sur la ligne T2 par rapport aux échantillons prélevés à partir des tubes EDTA.

- Les échantillons de plasma peuvent générer des résultats plus appuyés que les échantillons de sang entier.
- Ne pas utiliser le test si sa pochette est endommagée.
- Ne pas ouvrir la pochette en aluminium avant qu'elle ne soit revenue à température ambiante pour éviter toute formation de condensation. L'humidité et une température élevée peuvent affecter les résultats.
- Suivre les bonnes pratiques de laboratoire.
- Les échantillons et l'équipement utilisés lors de la réalisation du test doivent être considérés comme potentiellement infectieux et traités comme tels. Éliminer les composants du test et les échantillons selon la procédure réservée aux déchets potentiellement infectieux.
- Ne pas renverser les échantillons sur la zone de la réaction. Ne pas toucher la zone de réaction du dispositif pour éviter une contamination.
- Ne pas mélanger et interchanger les réactifs des différents lots.

7 | PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

Prélèvement de sang capillaire :

Utiliser la pipette capillaire fournie et prélever 20 μ L de sang en suivant les étapes ci-dessous. Le prélèvement doit être utilisé immédiatement.



Piquer le doigt à l'aide d'une lancette. Frotter le long du doigt pour former une grosse goutte de sang.



Prélever la goutte en approchant la pipette capillaire à l'horizontale sans appuyer sur la poire.



Répéter l'étape précédente jusqu'à ce que le volume de sang atteigne la ligne.

Sang total (ponction veineuse), sérum, plasma, LCR :

Prélever de manière aseptique selon les procédures recommandées. Manipuler ces échantillons en utilisant une pipette de laboratoire et des cônes. Le sang ou le plasma prélevé sur EDTA ou héparine peuvent être utilisés. Le prélèvement peut être utilisé immédiatement.

Stockage des échantillons :

Ne pas laisser les échantillons à température ambiante pendant de longues périodes.

- Le sang capillaire prélevé par prélèvement au doigt doit être testé immédiatement.
- Le sang total prélevé par ponction veineuse doit être conservé entre 2 et 8 °C si le test est effectué dans les 2 jours qui suivent le prélèvement. Ne pas congeler les échantillons de sang total.
- Les échantillons de sérum, plasma et LCR peuvent être conservés pendant 8 heures à 15-30 °C ou à 2-8 °C jusqu'à 1 jour. En cas de plus longue conservation, les échantillons doivent être conservés à -20 °C.

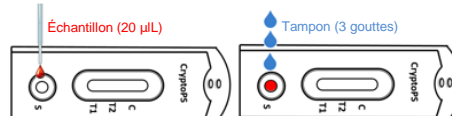
Ramener les échantillons à température ambiante avant d'effectuer le test. Les échantillons congelés doivent être décongelés complètement et être bien mélangés avant d'être testés. Éviter des cycles répétés de congélation / décongélation des échantillons.

8 | PROCÉDURE DE TEST

Ramener le kit complet et les échantillons à température ambiante (15-30°C) avant la réalisation du test.

Procédure semi-quantitative

1. Ouvrir la pochette en aluminium, sortir la cassette de son emballage et la placer sur une surface horizontale et plane. Effectuer le test immédiatement.
2. Transférer 20 μ L d'échantillon (sang total, sérum, plasma ou LCR) dans la cupule d'échantillon (S) de la cassette.
3. Ouvrir le flacon de tampon et ajouter 3 gouttes de tampon à la cupule d'échantillon. Éviter de piéger des bulles dans la cupule d'échantillon et de renverser le liquide dans la fenêtre de lecture des résultats.
4. Démarrer le minuteur. Un front de migration rougeâtre doit apparaître et migrer le long de la membrane. Lire le résultat à 10 minutes. Un résultat positif peut apparaître dès les premières minutes. Ne pas interpréter les résultats après 15 minutes.



Procédure de titration

1. Préparer 10 tubes et les numérotés de 1 à 10.
2. Transférer 225 μ L de tampon du flacon de tampon dédié à la procédure de titration dans le tube 1 et 120 μ L dans les tubes 2 à 10.
3. Ajouter 25 μ L d'échantillon au tube 1, pour obtenir une dilution de 1/10. Mélanger soigneusement au vortex.
4. Transférer 120 μ L du tube 1 au tube 2 pour obtenir une dilution de 1/20. Mélanger soigneusement au vortex.
5. Continuer la procédure de dilution jusqu'au tube 10 pour obtenir les dilutions suivantes :

Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5	Tube 6	Tube 7	Tube 8	Tube 9	Tube 10
1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120

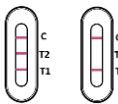
- Préparer 10 cassettes comme décrit à l'étape 1 de la procédure semi-quantitative.
- Distribuer 100 µL du tube 1 (1/10) dans la cupule d'échantillon (S) de la cassette 1. Distribuer 100 µL du tube 2 (1/20) dans la cupule d'échantillon (S) de la cassette 2. Continuer la même procédure pour chaque tube jusqu'à atteindre le tube 10 (1/5120) et la cassette 10.
- Démarrer le minuteur et lire les résultats après 10 minutes. Ne pas interpréter les résultats après 15 minutes.

9 | INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats sont interprétés comme négatifs, positifs ou invalides en fonction des lignes colorées qui apparaissent dans la zone de contrôle C et les zones de test T.

Interprétation de la procédure semi-quantitative

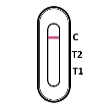
POSITIF



Positif fort : Présence de 3 lignes colorées distinctes. Une ligne apparaît au niveau de la zone de la ligne de contrôle C et deux lignes colorées (même de faible intensité) apparaissent au niveau des zones des lignes de test T1 et T2.

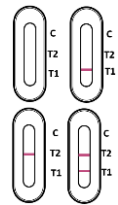
Positif : présence de 2 lignes colorées distinctes. Une ligne apparaît au niveau de la zone de la ligne de contrôle C et une ligne colorée (même de faible intensité) apparaît au niveau de la zone de la ligne de test T1.

NÉGATIF



Une seule ligne colorée apparaît au niveau de la zone de la ligne de contrôle (C). Aucune ligne n'apparaît au niveau des zones de la ligne de test T1 et T2.

INVALIDE



Aucune ligne colorée visible au niveau de la zone de la ligne de contrôle C, même si une ou plusieurs lignes apparaissent dans les zones T1 et/ou T2. Les résultats d'un test sans ligne de contrôle sont à écarter. Revoir la procédure et recommencer le test avec une nouvelle cassette.

En cas de présence de ligne dans les zones T2 et C, sans ligne dans la zone T1 : ne pas interpréter et renouveler le test avec une nouvelle cassette. Si le problème persiste prendre contact avec votre distributeur local.

NB : Ne pas interpréter l'intensité des lignes T1 et T2 comme une indication de la charge cryptococcique. Une étude⁸ a montré que la présence d'une bande T2 est « un diagnostic de substitution potentiellement utile de la méningite cryptococcique qui devrait inciter à une ponction lombaire et/ou à un traitement antifongique d'induction de la méningite cryptococcique ».

Interprétation de la procédure de titration

Pour la lecture, se reporter au paragraphe précédent (interprétation de la procédure semi-quantitative). Ne prendre en compte que la ligne T1 du test. Le titre en antigènes *Cryptococcus* correspond à la dernière dilution permettant d'obtenir un résultat positif.

10 | CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Contrôle interne :

Une ligne contrôle C est utilisée comme contrôle interne de la procédure. Son apparition indique que le volume d'échantillon utilisé est suffisant et que la procédure a été suivie correctement.

Contrôle externe :

Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'utilisation de contrôles pour s'assurer du bon fonctionnement du kit. Un contrôle positif est fourni dans ce kit. Il doit être testé souvent et au moins à l'ouverture du kit, selon les procédures de contrôle en place dans le laboratoire. Suivre la procédure du contrôle positif :

- distribuer 1 goutte de contrôle positif dans la cupule d'échantillon (S) de la cassette de test.
- Ajouter 3 gouttes de tampon.
- Lire le résultat à 10 minutes.

Remarque : Le contrôle positif doit être positif. Si le contrôle ne fonctionne pas comme prévu, ne pas interpréter les résultats du test. Répéter le test ou contacter votre distributeur local.

11 | LIMITES

- Comme pour tout test de diagnostic, le résultat doit être confronté aux résultats cliniques.
- Les résultats du test sont à interpréter en prenant en compte les contextes épidémiologique, clinique et thérapeutique. D'autres techniques de référence doivent être considérées, le cas échéant.

12 | PERFORMANCES

Sensibilité analytique avec suspension de levure

Des souches de *Cryptococcus neoformans* de quatre sérotypes (A, B, C et D) ont été testées avec BIOSYNEX CryptoPS. Le test détecte les quatre sérotypes de *Cryptococcus neoformans*.

Sensibilité analytique avec une solution d'antigène purifiée

L'antigène purifié du *Cryptococcus sp.* a été testé en dilutions en série pour déterminer la limite de détection de BIOSYNEX CryptoPS.

- La ligne de test T1 apparaît à 25 ng/mL d'antigènes capsulaires du *Cryptococcus sp.* dans le LCR et à 50 ng/mL d'antigènes capsulaires dans le sérum, le plasma et le sang total.
- La ligne de test T2 apparaît à 2500 ng/mL d'antigènes capsulaires de *Cryptococcus sp.*

Évaluation interne

Le test BIOSYNEX CryptoPS a été comparé à un autre test rapide. Les résultats sont les suivants :

	Plasma	Sang total
Sensibilité relative*	95,2 % (20/21)	/
Spécificité relative	100 % (23/23)	100 % (23/23)

*Ligne T1 uniquement

Évaluation externe⁷

Le test BIOSYNEX CryptoPS a été comparé à un autre test rapide à l'aide de 100 échantillons de sang total issus de sérothèque (50 échantillons positifs et 50 échantillons négatifs). Une sensibilité relative de 96 % (48/50) et une spécificité relative de 96 % (48/50) ont été obtenues.

Évaluation externe⁸

Le test BIOSYNEX CryptoPS a été comparé à un autre test rapide à l'aide de 186 échantillons de plasma, de sérum, d'urine et de LCR provenant de patients infectés par le VIH n'ayant jamais reçu de traitement antirétroviral (art). Les pourcentages de concordance entre les deux tests étaient respectivement de 99,5 %, 98,3 %, 83,4 % et 100 %.

Évaluation externe

Le test BIOSYNEX CryptoPS a été comparé à un autre test rapide à l'aide de 35 échantillons de LCR (2 échantillons positifs et 33 échantillons négatifs). Une sensibilité relative de 100 % (2/2) et une spécificité relative de 100 % (33/33) ont été obtenues.

Réactivité croisée

Neuf échantillons présentant des réactions croisées potentielles et représentant 4 maladies différentes (histoplasmosse, coccidioidomycose, aspergillose et septicémie à trichosporon) ont été testés avec BIOSYNEX CryptoPS. Aucune réactivité croisée n'a été observée avec aucun de ces échantillons cliniques. Cependant, les extraits de cultures de *Trichosporon* ont donné des résultats positifs.

Substances interférentes

Le test BIOSYNEX CryptoPS a été testé avec des substances interférentes potentielles. Une concentration de triloïne supérieure à 7,5 g/l peut interférer et générer des résultats faussement négatifs sur la ligne T2. Une concentration de bilirubine supérieure à 120 mg/l peut interférer et générer des résultats faussement positifs sur la ligne T1. Des interférences générant des résultats faussement positifs dus à une concentration élevée ont été observées avec des échantillons cliniques ayant une concentration d'urée et de triglycérides supérieure à 2 g/l et 3,9 g/l respectivement.

Effet crochet

Un effet crochet a été étudié en effectuant des tests par dilution en série à partir d'une concentration élevée (100 µg/mL) d'antigène du *Cryptococcus sp.* purifié. Tous les résultats ont montré une tendance à la baisse de l'intensité de la bande avec l'augmentation de la concentration de l'antigène. Aucun effet crochet n'a été observé.

13 | BIBLIOGRAPHIE

- Tamara L. Doering. How sweet it is! Capsule formation and cell wall biogenesis in *Cryptococcus neoformans*. Annual Reviews of Microbiology, 63:223-247, 2009
- McTaggart L, Richardson S., Seah C., Hoang L., Fothergill A. and Zhang S., Rapid Identification of *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*, *C. neoformans* var. *neoformans*, and *C. gattii* by Use of Rapid Biochemical Tests, Infectious Media, and DNA Sequencing, Journal of clinical microbiology, July 2011, p. 2522-2527
- WHO, March 2018 <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/260399/9789241550277-eng.pdf>
- Centers for Disease Control and Prevention, <http://www.cdc.gov/fungal/pdf/at-a-glance-508c.pdf>
- Centers for Disease Control and Prevention, <http://www.cdc.gov/fungal/diseases/cryptococcosis-neoformans/>
- Guidelines for Management of Cryptococcosis, http://www.idsociety.org/uploadedFiles/IDSA/GuidelinesPatient_Care/PDF_Library/Cryptococcal.pdf
- Sriruttan C et al. Comparison of a novel semi-quantitative prototype and a commercial lateral flow assay for detection of cryptococcal antigen from thawed whole blood samples, ECCMID, 2016
- Temfack E. et al., Cryptococcal Antigen Screening in Asymptomatic HIV-Infected Antiretroviral Naïve Patients in Cameroon and Evaluation of the New Semi-Quantitative Biosynex CryptoPS Test, Frontiers in Microbiology, March 2018, volume 9, article 409.

14 | SYMBOLES

	Lire attentivement la notice d'utilisation		Tests par kit		Référence produit
	Réservé au diagnostic in vitro		Conserver entre 2 °C et 25 °C		Ne pas réutiliser
	Fabricant		N° de lot		Date d'expiration
	Diluant		Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé.		

IFU_1120001_FR_V07202111R01
Date de dernière révision : 11/2021