

# TECHLAB® *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*®

A Monoclonal ELISA for Detecting *Giardia* and  
*Cryptosporidium* Antigen in Fecal Specimens

Catalog No. 30401 (96 Tests)

**IVD** *In Vitro* Diagnostic Medical Device

ESPAÑOL p. 10

Prueba de ELISA monoclonal para detectar antígenos de  
*Giardia* y *Cryptosporidium* en muestras fecales

Prod. No. 30401 (96 Pruebas)

**IVD** Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

DEUTSCH p. 19

Ein monoklonaler ELISA-Test zum Nachweis von *Giardia*- und  
*Cryptosporidium*-Antigen in Stuhlproben

Katalognummer. 30401 (96 Tests)

**IVD** *In-Vitro*-Diagnostikum

FRANÇAISE p. 28

Un ELISA monoclonal pour la détection des antigènes  
*Giardia* et *Cryptosporidium* dans la matière fécale

Numéro de Catalogue 30401 (96 Analyses)

**IVD** Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

**Made in the USA**

---

Developed and Manufactured by:



**TECHLAB®**

2001 Kraft Drive

Blacksburg, VA 24060-6358 USA

[www.techlab.com](http://www.techlab.com)

TEL 1-800-832-4522 USA

TEL 1-540-953-1664 Outside USA

**CE** **EC REP** Emergo Europe  
Westervoortsedijk 60  
6827 AT Arnhem  
The Netherlands

## GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK®

### INTENDED USE

The *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® test is an enzyme immunoassay for the qualitative detection of *Giardia* cyst and *Cryptosporidium* oocyst antigen in human fecal specimens. It is indicated for use as an aid in the diagnosis of patients with diarrhea suspected of *Giardia* and/or *Cryptosporidium* gastrointestinal infections.

Caution: U.S. Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a physician.

### EXPLANATION

*Giardia* spp. is a binucleated flagellated protozoan parasite which exists in two forms: a noninfectious, pear-shaped trophozoite (9 to 20 µm) inhabiting the small intestine and the highly infectious cyst form which is elliptical in shape and ranges in size from 8 to 12 µm (1). Survival outside its host varies greatly between the two forms: the trophozoite, which is extremely labile, lasts only a matter of hours outside the body, while the cyst form may survive for several days in an external environment (1). The parasite is responsible for infections due to water contamination and travelers have been found to contract giardiasis from endemic areas (2-5). Transmission also occurs by direct contact especially by asymptomatic carriers and by food contamination (6,7). High-risk categories include young children, immunocompromised patients and those without previous exposure (8). More recently, giardiasis has become a common sexually transmitted disease (9). Animal fecal contamination especially of water is another route of transmission in humans (4,10,11).

Clinical manifestations of giardiasis range from asymptomatic carriage with the passing of cysts to chronic debilitating diarrhea, weight loss and malabsorption (8,12,13). Diagnosis by microscopy has been the most common method used for giardiasis. However, this procedure requires extensive experience and the presence of intact cysts in the feces. An alternative test is the ELISA. This procedure is fairly simple to perform and exhibits increased sensitivity compared to microscopic examination. With microscopy, fecal specimens are examined using various procedures (14) and accuracy of results is dependent on the skill of the technician. The success rate of fecal examination varies between 50 and 70% (15, 16) and several specimens are usually necessary to establish a diagnosis. Giardiasis also may be present in the absence of whole organisms and can be confused with other illnesses such as Crohn's disease and ulcerative colitis (17). When infection is present but parasites are not detected, sampling and testing of duodenal fluid may detect trophozoites, but this method is invasive and expensive (14,16). Detection of the organism and antigens by ELISA provides an alternative method of establishing a diagnosis and is sensitive and specific (18-20). Large numbers of specimens can be tested rapidly and objectively, and the procedure is less labor intensive than most microscopy methods.

*Cryptosporidium* spp. is a protozoan parasite of vertebrates previously thought to cause diarrhea only in animals (23). In 1976, the first human infection was reported (24). Since then it has been found to be associated with diarrheal illness in most parts of the world and is a frequent cause of travellers' diarrhea (23,25). The disease is transmitted by the thick-walled oocyst form, 2-6 µm in diameter, which is remarkably resistant to common disinfectants and routine chlorination of drinking water. Person-to-person transmission, especially among children, is common (26). *Cryptosporidium* has little or no host specificity and animals such as rodents, cattle and domestic pets serve as a reservoir for zoonotic transmission to humans (23,27). This occurs either by direct contact or by contamination of water supplies with fecal matter (23,28-30). Cryptosporidiosis is a serious opportunistic infection in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and is potentially a sexually transmitted disease (28,31).

Clinical manifestations of cryptosporidiosis include cholera-like diarrhea, abdominal pain, nausea, vomiting and weight loss. In normal persons the infection is usually self-limiting and short term. In AIDS and immunosuppressed patients, cryptosporidiosis can result in prolonged and life-threatening illness due to excessive fluid loss. In these patients the infection may also spread to the respiratory and biliary tracts (28).

## BIOLOGICAL PRINCIPLES

The *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> test uses monoclonal and polyclonal antibodies to cell-surface antigens of *Giardia* and an oocyst antigen of *Cryptosporidium*. The *Microassay Plate* in the kit contains immobilized monoclonal antibodies against the antigens and the *Conjugate* consists of polyclonal antibodies against the antigens. In the assay, an aliquot of a diluted fecal specimen is transferred to a microassay well. The immobilized monoclonal antibodies bind the *Giardia* and *Cryptosporidium* antigens if the antigens are present. Upon addition, *Conjugate* then binds to the antigen/antibody complex. Any unbound materials are removed during the washing steps. Following the addition of substrate, a color is detected due to the enzyme-antibody-antigen complexes that formed in the presence of *Giardia* and/or *Cryptosporidium* antigens and *Conjugate*.

## MATERIALS PROVIDED

- CONJ** **ENZ** **Conjugate**, 7 mL (Rabbit polyclonal antibody to a cell-surface antigen of *Giardia* and rabbit polyclonal antibody to a cell-surface antigen of *Cryptosporidium* in a buffered protein solution containing 0.02% thimerosal)\*
- DIL** **SPE** **Diluent**, 50 mL (Buffered protein solution containing 0.02% thimerosal)\*. The *Diluent* is also to be used as the negative control solution (see TEST PROCEDURE).
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** **0.6N** **Stop Solution**, 7 mL (0.6N sulfuric acid). Caution: Avoid contact with skin. Flush with water immediately if contact occurs.  
Signal Word: Danger  
H314: Causes severe skin burns and eye damage  
P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353, P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501
- CONTROL** **+** **Giardia Positive Control**, 3.5 mL (*Giardia* antigen in a buffered protein solution containing 0.02% thimerosal)\*
- CONTROL** **+** **Cryptosporidium Positive Control**, 3.5 mL (Heat-inactivated bovine fecal material containing *Cryptosporidium* antigen in a buffered protein solution with 0.02% thimerosal)\*
- SUBS** **REAG** **Substrate**, 14 mL (solution containing tetramethylbenzidine and peroxide)
- WASHBUF** **20X** **Wash Buffer Concentrate**, 50 mL (20X concentrate containing phosphate-buffered saline, detergent and 0.2% thimerosal)\*  
Signal Word: Warning  
H373: May cause damage to organs through prolonged or repeated exposure  
H411: Toxic to aquatic life with long lasting effects  
P260, P273, P314, P391, P501
- MA** **PLT** **Microassay Plate**, 12 strips, each consisting of 8 wells coated with monoclonal antibodies to *Giardia* cell-surface antigen and monoclonal antibodies to *Cryptosporidium* oocyst antigen (stored with desiccant)



2 plastic adhesive sheets

100 graduated disposable pipettes

\*contains mercury



## MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Squirt bottle for wash reagent  
950 mL distilled water for diluting wash reagent  
Absorbent paper  
Small test tubes (e.g., microcentrifuge tubes)  
ELISA reader capable of reading at 450 nm or 450/620 nm

Vortex mixer  
Discard container  
Applicator sticks

## PRECAUTIONS

1. Rx Only - Prescription Only
2. For *in vitro* diagnostic use. For professional use only.

3. Reagents from different kits should not be mixed. Do not use a kit past the assigned expiration date.
4. Reagents should be brought to room temperature before use.
5. Caps and tips are color-coded; do not mix.
6. Each component in the kit should be inspected for any signs of leakage. Upon arrival, the kit should be inspected to ensure that components are not frozen or warm to the touch due to improper shipping conditions.
7. When handling assay wells, avoid scratching the bottom of the wells because this may result in elevated absorbance readings.
8. Hold dropper bottles vertically when dispensing to ensure proper drop size.
9. Unused microassay wells must be placed back inside the resealable pouch with the desiccant to protect them from moisture.
10. Perform the washing procedure as directed to avoid high background reactions.
11. The *Substrate* is light sensitive and should be protected from direct sunlight or UV sources. If the *Substrate* is exposed to light and develops a color, it must be discarded.
12. Optimal results are obtained by following the specified test procedure. The concentrations, incubation conditions, and processing specifications have been optimized for sensitivity and specificity. Alterations of the specified procedure and/or test conditions may affect the sensitivity and specificity of the test.
13. Microbial contamination of reagents may decrease the accuracy of the assay. Avoid microbial contamination of reagents by using sterile disposable pipettes if removing aliquots from reagent bottles.
14. Handle specimens and used microassay wells as if capable of transmitting infectious agents. Wear disposable gloves when doing the test.
15. The *20X Wash Buffer Concentrate* contains 0.2% Thimerosal as a preservative. Once diluted to normal use concentration this solution is classified as non-hazardous. The *Stop Solution* contains 0.6N sulfuric acid. Flush with water immediately if contact occurs. Take off contaminated clothing and wash it before reuse. Handle reagents according to existing regulations for laboratory safety and good laboratory practice. Safety Data Sheets for this product are available upon request, contact technical support.
16. Follow your national, regional, and local ordinances accordingly for waste disposal regulations. Do not place in trash, dispose of as hazardous waste.

#### **SHELF LIFE AND STORAGE**

The expiration date of the kit is given on the box label. Expiration dates for each component are listed on individual labels. The kit should be stored between 2° and 8°C and should be returned to the refrigerator as soon as possible after use.

#### **SPECIMEN HANDLING**

1. Standard collection and handling procedures used in-house for fecal specimens for culture are appropriate. No modification of collection methods used for standard microscopic O&P examinations is needed. Fecal specimens may be used as unpreserved or frozen, or in preservation media of 10% buffered formalin or Sodium Acetate Formalin (SAF).
2. Unpreserved specimens should be kept between 2° and 8°C and tested within 24 hours of collection. Specimens that cannot be tested within this time should be stored at -20°C or less until tested.
3. Preserved specimens may be kept at room temperature and tested within 18 months of collection.
4. Concentration steps are not needed (or recommended) for fecal specimens.
5. Make sure that specimens are thoroughly mixed (vortexed) prior to performing the test. This includes complete mixing of the specimen prior to transfer to the *Diluent* and/or microassay well.
6. All dilutions must be made with *Diluent*.

## REAGENT PREPARATION

1. The contents of the kit should be brought to room temperature before use.
2. Prepare 1X *Wash Solution*. The *Wash Buffer Concentrate* is supplied as a 20X concentrate (a precipitate may be noticed). It should be diluted to a total volume of 1 liter by adding 50 mL of the concentrate to 950 mL of distilled water. The 1X *Wash Solution* can be stored between 2° and 8°C.
3. All reagents, with the exception of the *Wash Buffer Concentrate*, are supplied in ready-to-use bottles. Reagents can be dispensed directly from the dropper bottles or decanted for use with multichannel pipettes. If excess reagent has been decanted, the excess should be discarded. Do not pour back into the bottle. The *Substrate* should be stored in and used from the light-protected bottle in which it is supplied. If an aliquot is removed from the original bottle for any reason, do not return unused *Substrate* to the original bottle.

## SPECIMEN PREPARATION

1. Fresh/Frozen Fecals: Frozen fecal specimens should be thawed. Add 400 µL of *Diluent* to a microcentrifuge tube (one tube per sample), then add 100 µL (2<sup>nd</sup> graduation mark on pipette) of fecal sample to the tube and mix well. If the specimen cannot be pipetted, use an applicator stick to transfer approximately 0.1 gram of feces. This is about the size of a small pea (about 4 mm in diameter).
2. Preserved Fecals: Mix (vortex) contents of container thoroughly before transferring specimen. No further processing or dilution is necessary.

## TEST PROCEDURE

1. Prepare three control wells to serve as positive and negative controls. To the first positive control well, add 1 drop (50 µL) of *Giardia Positive Control* (black cap), to the second positive control well add 1 drop (50 µL) of *Cryptosporidium Positive Control* (white cap), and to the negative control well add 2 drops (100 µL) of *Diluent*.
2. If fresh or frozen samples (i.e. unpreserved) are to be used, make a dilution as stated in SPECIMEN PREPARATION above.
3. Transfer 100 µL of *Diluent* to each test well of the *Microassay Plate*. Using plastic pipettes, transfer 1 drop (50 µL, 1<sup>st</sup> graduation mark on pipette) of sample (preserved or diluted as above) to each test well already containing *Diluent* and gently tap the wells to mix. Seal with a plastic adhesive sheet and incubate for 1 hour at room temperature.
4. Shake out contents of assay wells into a discard pan. Wash each well using the 1X *Wash Solution* in a squirt bottle with a fine-tipped nozzle, directing the *Wash Solution* to the bottom of the well with force. Fill the wells, shake the wash solution out of the well into a discard pan and slap the plate hard onto a dry paper towel. Repeat the washing step 4X (for a total of 5 washes). If any fecal material remains in the wells, wash the plate until it appears clean.
5. After washing, completely remove any residual liquid in the wells by striking the plate onto a dry paper towel until no liquid comes out. Dispose of paper towels and specimen containers properly.
6. Add 1 drop (50 µL) of *Conjugate* (red cap) to each well and gently tap to mix. Seal with a plastic adhesive sheet. Incubate the wells for 30 minutes at room temperature.
7. Repeat the washing procedure (Steps 4 and 5).
8. Add 2 drops (100 µL) of *Substrate* (blue cap) to each well. Gently tap the wells to mix. Incubate the wells at room temperature for 10 minutes.
9. Add 1 drop (50 µL) of *Stop Solution* (yellow cap) to each well. Gently tap the wells to mix and wait 2 minutes before reading. The addition of the *Stop Solution* converts the blue color to a yellow color, which may be quantitated by measuring the absorbance at 450 nm on a microplate ELISA reader. The instrument should be blanked against air. Wipe the underside of each well to remove moisture before measuring the absorbance. If a dual reader is used, blank against air at 620 nm and read at 450 nm. Visual readings should be noted. Read within ten minutes after adding *Stop Solution*.

## QUALITY CONTROL

1. A *Giardia* Positive Control, *Cryptosporidium* Positive Control, and a negative control must be run with each series of test specimens.
2. Each positive control well should be an easily visible yellow color and should give an absorbance of 0.500 or higher. Any well that gives a positive reading without visible color should be repositioned, wiped on the underside of the well to remove moisture, and read again.
3. Negative control wells should be colorless or they may have a faint yellow color but they must have an absorbance value of <0.150 when read on single wavelength (OD<sub>450nm</sub>) or <0.090 when read on dual wavelength (OD<sub>450/620nm</sub>).
4. Test results are not valid unless the performance characteristics of the positive and negative controls are met. If these results are not observed, call Technical Services.
5. Test results along with control absorbance values should be recorded and reported according to in-house procedures and should be stored according to in-house procedures for future reference.

## INTERPRETATION OF RESULTS

Absorbance		Visual Color	Interpretation
450 nm	450/620 nm		
< 0.150	< 0.090	Clear to slight yellow	Negative - Antigen is not detected. Below the detectable limits of the assay.
≥ 0.150	≥ 0.090	Pale yellow to strong yellow	Positive - Specimen contains <i>Giardia</i> antigen and/or <i>Cryptosporidium</i> antigen

### Visual Interpretation

**Negative:** Any sample that is colorless or resembles the negative control well in intensity of color. Antigen is not detected. Below the detectable limits of the assay.

**Positive:** Any sample that is obviously more yellow than the negative control well. Specimen contains *Giardia* antigen and/or *Cryptosporidium* antigen.

NOTE: The negative control, as well as some test wells, may show some slight yellow color. A sample well must be obviously more yellow than the negative control well to be called a positive result.

### Spectrophotometric Interpretation

1. Determine the absorbance value of the negative control.  
The negative control reading should be < 0.150 OD<sub>450</sub> or < 0.090 OD<sub>450/620</sub>. If not, the test is invalid and should be repeated, paying attention to the wash procedure.
2. The reading for the *Positive Control* should be ≥ 0.500.
3. Test results  
 Negative: < 0.150 (absorbance at 450 nm) or < 0.090 (absorbance at 450/620 nm).  
 Antigen is not detected. Below the detectable limits of the assay.  
 Positive: ≥ 0.150 (absorbance at 450 nm) or ≥ 0.090 (absorbance at 450/620 nm).  
 Specimen contains *Giardia* antigen and/or *Cryptosporidium* antigen.

## LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® test detects the presence of *Giardia* and *Cryptosporidium* antigen in fecal specimens.
2. The test results should be interpreted by a physician in consideration of other laboratory results and clinical history.
3. Concentrated fecal specimens should not be tested in the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® test and will not give accurate results.
4. The predictive value of a positive result decreases when testing in a low prevalence population.
5. The *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® test is for the qualitative detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* antigen in fecal specimens. It has not been evaluated for quantitative determinations of organism load, and the magnitude of the absorbance value is not intended to correlate with organism load.

## EXPECTED VALUES

Normal healthy individuals should not be infected with *Giardia* or *Cryptosporidium* and should test negative in the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® test. A positive test result in the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® test indicates that the person is shedding detectable amounts of *Giardia* or *Cryptosporidium* antigen. The incidence of *Giardia* and *Cryptosporidium* infection varies significantly between populations and geographic regions. Children in daycare settings have exhibited higher rates of infection with *Giardia* than the normal population (21). In addition, homosexual men have shown higher rates of infection (22). In general, laboratory-confirmed incidence of cryptosporidiosis in developed countries ranges from 1 to 2% overall with a higher incidence in children (32).

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

An independent diagnostics laboratory evaluated the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® test for its ability to detect *Giardia* and *Cryptosporidium* antigens in preserved fecal specimens. Of the 217 specimens analyzed by microscopy, 74 were positive for *Giardia* and 44 were positive for *Cryptosporidium*. Three specimens were positive for both *Giardia* and *Cryptosporidium*. Each specimen was subsequently tested using the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® test. Results are summarized in Tables 1, 2 and 3.

**Table 1. Comparison of the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® test with microscopy for detection of *Giardia* and/or *Cryptosporidium*.**

Total Samples (n = 217)		Microscopy	
		Positive	Negative
<i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK</i> ®	Positive	121	0
	Negative	3	93

		95% CI
Sensitivity	97.6%	92.6% - 99.4%
Specificity	100%	95.1% - 100%
Predictive Positive Value	100%	96.2% - 100%
Predictive Negative Value	96.9%	90.5% - 99.2%
Correlation	98.6%	98.2% - 98.9%

**Table 2. Comparison of the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® test with microscopy for the detection of *Giardia* only. All samples in this data set have been shown to be negative for *Cryptosporidium* by microscopy.**

Total Samples (n = 167)		Microscopy	
		Positive	Negative
<i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK</i> ®	Positive	74	0
	Negative	0	93

		95% CI
Sensitivity	100%	93.9% - 100%
Specificity	100%	95.1% - 100%
Predictive Positive Value	100%	93.9% - 100%
Predictive Negative Value	100%	95.1% - 100%
Correlation	100%	100% - 100%

**Table 3. Comparison of the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> test with microscopy for the detection of *Cryptosporidium* only. All samples in this data set have been shown to be negative for *Giardia* by microscopy.**

Total Samples (n = 140)		Microscopy	
		Positive	Negative
<i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK</i> <sup>®</sup>	Positive	44	0
	Negative	3	93

		95% CI
Sensitivity	93.6%	81.4% - 98.3%
Specificity	100%	95.1% - 100%
Predictive Positive Value	100%	90.0% - 100%
Predictive Negative Value	96.9%	90.5% - 99.2%
Correlation	97.9%	97.1% - 98.4%

### CROSS REACTIVITY

An independent diagnostics laboratory evaluated the *GIARDIA CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> test using fecal specimens found to be positive for a variety of intestinal pathogens. No cross reactivity was observed with fecal specimens that contained any of the pathogens listed below. The number of specimens tested with each organism is shown in parentheses.

<i>Ascaris lumbricoides</i> eggs (26)	<i>Entamoeba coli</i> (17)
<i>Blastocystis hominis</i> (31)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (4)
<i>Chilomastix mesnili</i> (2)	<i>Enterobius vermicularis</i> eggs (6)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (1)	<i>Hymenolepis nana</i> eggs (4)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (10)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (4)
<i>Diphyllobothrium latum</i> eggs (1)	<i>Strongyloides stercoralis</i> larvae (2)
<i>Endolimax nana</i> (36)	<i>Taenia</i> spp. eggs (2)
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (9)	<i>Trichuris trichiura</i> eggs (20)

The *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> test was evaluated for crossreactivity with the bacterial and viral strains listed below. None of the strains were shown to crossreact with the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> test.

<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC (enterotoxigenic)
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Escherichia coli</i> EPEC (enteropathogenic)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC (enteroinvasive)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Campylobacter coli</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Clostridium difficile</i>
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
Adenovirus type 1	Adenovirus type 2
Adenovirus type 5	Adenovirus type 40
Human coronavirus	Coxsackievirus B2
Coxsackievirus B4	Coxsackievirus B5
Echovirus 11	Echovirus 18
Echovirus 33	Enterovirus type 68
Enterovirus type 70	Enterovirus type 71
	Adenovirus type 3
	Adenovirus type 41
	Coxsackievirus B3
	Echovirus 9
	Echovirus 22
	Enterovirus type 69



## INTERFERING SUBSTANCES

The following substances had no effect on positive or negative test results analyzed at the concentrations indicated: mucin (3.5% w/v), human blood (40% w/v), Imodium® (5% w/v), Kaopectate® (5 mg/mL), Pepto-Bismol® (5% w/v), fecal fat (stearic acid - 40% w/v), Metronidazole (0.25% w/v), Vancomycin (0.25% w/v).

## SPECIMEN PRESERVATIVE COMPATIBILITY

The *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® test was examined for compatibility with preserved fecal specimens during an in-house evaluation. No decrease in sensitivity or specificity was observed with specimens preserved in 10% buffered formalin or Sodium Acetate Formalin (SAF) when compared to fresh and frozen specimens.

## PRECISION – INTRA-ASSAY

The intra-assay % Coefficient of Variation (CV) was determined by analyzing six positive fecal specimens (three positive for *Giardia* and three positive for *Cryptosporidium*) and two negative fecal specimens. Each specimen was assayed in twelve test wells. The % CV of positive specimens ranged from 1.5 to 12.2, with an average of 6.3. The % CV of negative specimens ranged from 3.2 to 3.5, with an average of 3.4.

## PRECISION - INTER-ASSAY

For the determination of inter-assay performance, six positive fecal specimens (three positive for *Giardia* and three positive for *Cryptosporidium*) and two negative fecal specimens were assayed a total of five times over a five-day period using the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® kit. The % Coefficient of Variation (CV) of positive specimens ranged from 0.3 to 18.1, with an average % CV of 7.4. The % CV of negative specimens ranged from 4.1 to 7.7, with an average of 5.9.

## GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK® - ESPAÑOL

### INDICACIÓN DE USO

La prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® es un inmunoensayo enzimático para la detección cualitativa de antígenos de quistes de *Giardia* y de ovoquistes de *Cryptosporidium* en muestras fecales humanas. Su uso está indicado como ayuda al diagnóstico de pacientes con diarrea por sospecha de infección gastrointestinal por *Giardia* o *Cryptosporidium*.

Precaución: La Ley Federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo o bajo prescripción médica.

### EXPLICACIÓN

Las especies de *Giardia* son protozoos parásitos flagelados que existen en dos formas: un trofozoíto no infeccioso con forma de pera (9 a 20 µm) que habita en el intestino delgado y la forma de quiste, altamente infecciosa, de forma elíptica y un tamaño de 8 a 12 µm (1). La supervivencia fuera del hospedador varía en gran medida entre ambas formas: el trofozoíto, que es extremadamente lábil, sólo vive algunas horas fuera del organismo, mientras que el quiste puede sobrevivir durante varios días en un ambiente externo (1). El parásito es responsable de infecciones debidas a la contaminación del agua y algunos viajeros han contraído giardiasis en zonas endémicas (2-5). La transmisión también ocurre por contacto directo, especialmente a partir de portadores asintomáticos y por contaminación alimentaria (6,7). Las categorías de alto riesgo incluyen a los niños, los pacientes inmunocomprometidos y aquellas personas que han tenido una exposición anterior (8). Más recientemente, la giardiasis se ha convertido en una enfermedad de transmisión sexual común (9). La contaminación fecal animal, especialmente del agua, es otra vía de transmisión en seres humanos (4,10,11).

Las manifestaciones clínicas de giardiasis oscilan entre portador asintomático con emisión de quistes a diarrea debilitante crónica, pérdida de peso y malabsorción (8,12,13). El diagnóstico mediante microscopía ha sido el método más común usado en la giardiasis. Sin embargo, este procedimiento requiere una amplia experiencia y la presencia de quistes intactos en las heces. Un método alternativo es ELISA. Este procedimiento es bastante sencillo de realizar y más sensible en comparación con el análisis microscópico. Con el microscopio, las muestras fecales se examinan utilizando diversos procedimientos (14) cuya exactitud depende de la habilidad del técnico. La tasa de éxito del análisis fecal oscila entre el 50% y el 70% (15,16) y normalmente son necesarias varias muestras para establecer el diagnóstico. La giardiasis también puede estar presente en ausencia de organismos completos y se puede confundir con otras enfermedades, como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa (17). Cuando la infección está presente pero no se detectan parásitos, la toma de muestras y el análisis del líquido duodenal puede detectar trofozoítos, pero este método es invasivo y caro (14,16). La detección del organismo y los antígenos mediante ELISA proporciona un método alternativo para establecer el diagnóstico, que es sensible y específico (18-20). Se pueden analizar con rapidez y objetividad gran número de muestras y el procedimiento es menos laborioso que la mayoría de métodos microscópicos.

Las especies de *Cryptosporidium* son protozoos parásitos de vertebrados; anteriormente se pensaba que causaban diarrea sólo en animales (23). En 1976 se notificó el primer caso de infección en seres humanos (24). Desde entonces se ha asociado a diarrea en la mayor parte del mundo y es una causa frecuente de diarrea del viajero (23,25). La enfermedad es transmitida por el ovoquiste de pared gruesa, de 2-6 µm de diámetro, que presenta una gran resistencia a los desinfectantes comunes y la cloración rutinaria del agua potable. La transmisión persona a persona, especialmente entre niños, es común (26). El *Cryptosporidium* tiene poca o nula especificidad de portador y animales como roedores, vacas y mascotas domésticas sirven como reservorio para la transmisión zoonótica a seres humanos (23, 27). Ésta ocurre bien por contacto directo o por contaminación de los suministros de agua con material fecal (23,28-30). La criptosporidiosis es una infección oportunista grave en pacientes con síndrome de




inmunodeficiencia adquirida (sida) y es una enfermedad de transmisión sexual potencial (28,31).

Las manifestaciones clínicas de la criptosporidiosis incluyen diarrea coleriforme, dolor abdominal, náuseas, vómitos y pérdida de peso. En personas normales la infección es habitualmente autolimitada y de corta duración. En pacientes con sida e inmunodeprimidos, la criptosporidiosis puede causar una enfermedad prolongada y potencialmente mortal por la pérdida excesiva de líquidos. En estos pacientes, la infección puede también propagarse a las vías respiratorias y biliares (28).

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> utiliza anticuerpos monoclonales y policlonales contra los antígenos de superficie celular de *Giardia* y un antígeno del ovoquiste de *Cryptosporidium*. La *Placa para microanálisis* del kit contiene anticuerpos monoclonales inmovilizados contra los antígenos y el *Conjugado* consiste en anticuerpos policlonales contra los antígenos. En el ensayo, una alícuota de muestra fecal diluida se transfiere a un pocillo de microensayo. Los anticuerpos monoclonales inmovilizados se unen a los antígenos de *Giardia* y *Cryptosporidium* si los antígenos están presentes. Al añadirlo, el *Conjugado* se une entonces al complejo antígeno/anticuerpo. Cualquier material no unido se retira durante los pasos de lavado. Tras la adición de un sustrato, se detecta un color debido a los complejos enzima-anticuerpo-antígeno que se forman en presencia de los antígenos de *Giardia* o *Cryptosporidium* (o de ambos) y del *Conjugado*.

## MATERIALES PROVISTOS

- CONJ | ENZ** **Conjugado**, 7 mL (anticuerpo policlonal de conejo a un antígeno de superficie celular de *Giardia* y anticuerpo policlonal de conejo a un antígeno de superficie celular de *Cryptosporidium* en suspensión tamponada de proteína que contiene 0,02% de timerosal)\*.
- DIL | SPE** **Diluyente**, 50 mL (solución de proteína tamponada que contiene 0,02% de timerosal)\*. El *Diluyente* también se usa como solución de control negativo (véase PROCEDIMIENTO DE PRUEBA).
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> | 0.6N** **Solución de parada**, 7 mL (ácido sulfúrico 0,6N) Atención: Evite el contacto con la piel. Aclarar inmediatamente con agua si ocurre el contacto.  
Palabra de advertencia: Peligro  
H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves  
P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353, P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501 
- CONTROL | +** **Control Positivo de Giardia**, 3,5 mL (antígeno de *Giardia* en una solución de proteína tamponada que contiene 0,02% de timerosal)\*.
- CONTROL | +** **Control Positivo de Cryptosporidium**, 3,5 mL (material fecal bovino inactivado por calor que contiene antígeno de *Cryptosporidium* en una solución de proteína tamponada con 0,02% de timerosal)\*.
- SUBS | REAG** **Sustrato**, 14 mL (solución que contiene tetrametilbenzidina y peróxido).
- WASHBUF | 20X** **Tampón de lavado concentrado**, 50 mL (concentrado 20x que contiene suero fisiológico tamponado con fosfato, detergente y 0,2% de timerosal)\*.  
Palabra de advertencia: Advertencia  
H373: Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas  
H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.  
P260, P273, P314, P391, P501   

- MA | PLT** **Placa para microanálisis**, 12 tiras, cada una consistente en 8 pocillos recubiertos con anticuerpos monoclonales para *Giardia* con antígeno de superficie celular y anticuerpos monoclonales para *Cryptosporidium* con antígeno de ovoquiste (almacenada con desecante).

Dos hojas adhesivas de plástico

100 pipetas graduadas desechables

\*contiene mercurio



### MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROPORCIONADOS

Piceta para el reactivo de lavado

950 mL de agua destilada para diluir el reactivo de lavado

Tubos de ensayo pequeños (p. ej., tubos de microcentrífuga)

Lector de ELISA capaz de leer a 450 nm o 450/620 nm

Mezclador vórtex

Contenedor desechable

Papel absorbente

Varillas aplicadoras

### PRECAUCIONES

1. Rx Only - Solo con receta
2. Para uso diagnóstico *in vitro*. Exclusivamente para uso profesional.
3. No deben mezclarse los reactivos de kits diferentes. No use un pasada su fecha de caducidad.
4. Los reactivos deben estar a temperatura ambiente antes de usarse.
5. Las tapas y puntas están codificadas con colores; ¡No las mezcle
6. Cada componente del kit debe inspeccionarse por cualquier posible signo de fugas. Al recibirlo, el kit debe inspeccionarse para comprobar que los componentes no están congelados ni calientes al tacto debido a condiciones de envío inadecuadas.
7. Cuando maneje los pocillos de ensayo, evite raspar el fondo de los pocillos porque esto puede causar lecturas de absorbancia elevadas.
8. Mantenga los viales goteros en forma vertical para asegurar un tamaño de gota apropiado.
9. Los pocillos de microensayo sin utilizar deben ser puestos de nuevo en la bolsa resellable con el desecante para protegerlos de la humedad.
10. Realice el procedimiento de lavado tal como se indica, para evitar altas reacciones de fondo.
11. El Sustrato es sensible a la luz y debe ser protegido de la radiación solar directa o de fuentes de radiación ultravioleta.
12. Resultados óptimos se obtienen al seguir los procedimientos de la prueba aquí especificados. Las concentraciones, condiciones de incubación, y especificaciones de procesamiento han sido optimizadas para sensibilidad y especificidad. Alteraciones del procedimiento especificado o de las condiciones de la prueba pueden afectar la sensibilidad y especificidad de ésta.
13. La contaminación microbiana de los reactivos puede menoscabar la precisión del análisis. Evite la contaminación microbiana de los reactivos utilizando pipetas estériles desechables cuando extraiga alícuotas de los frascos de reactivos.
14. Manipular las muestras y los pocillos de microanálisis utilizados como potenciales transmisores de agentes infecciosos. Utilice guantes desechables para realizar el test.
15. El *Concentrado de tampón de lavado 20X* contiene timerosal al 0,2% como conservante. Una vez diluida hasta la concentración de uso normal, esta solución se clasifica como no peligrosa. La Solución de Parada contiene ácido sulfúrico 0,6 N. Aclarar inmediatamente con agua si se produce el contacto. Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. Manejar los reactivos de acuerdo con las normas existentes de seguridad de laboratorio y buenas prácticas de laboratorio. Se dispone de fichas de datos de seguridad de este producto bajo pedido, consultar al soporte técnico.
16. Siga las normas nacionales, regionales y locales para consultar los reglamentos de eliminación de residuos. No lo tire a la basura, elimínelo como residuo peligroso.

### TIEMPO DE VALIDEZ Y CONSERVACIÓN

La fecha de caducidad del kit se indica en la etiqueta de la caja. Las fechas de caducidad de cada componente se indican en las etiquetas individuales. El kit debe almacenarse entre 2° y 8° C y debe devolverse a la nevera tan pronto como sea posible después del uso.

## MANIPULACIÓN DE LAS MUESTRAS

1. Los procedimientos internos estándar habituales de recogida y transporte de las muestras fecales para el cultivo son adecuados. No se necesita ninguna modificación de los métodos de recogida utilizados para las exploraciones microscópicas estándar de O&P. Las muestras fecales pueden utilizarse sin conservar o congeladas, o en un medio de conservación de formol tamponado al 10% o acetato sódico-formol (SAF).
2. Las muestras no conservadas deberán mantenerse entre 2° y 8° C y analizarse en las 24 horas siguientes a su obtención. Las muestras que no puedan analizarse en ese tiempo deberán almacenarse a -20° C o menos hasta el momento de su análisis.
3. Las muestras conservadas pueden mantenerse a temperatura ambiente y analizarse en los 18 meses siguientes a su obtención.
4. No son necesarios (ni recomendados) los pasos de concentración para muestras fecales.
5. Es necesario asegurarse de que las muestras estén completamente mezcladas (con el vórtex) antes de realizar la prueba. Esto incluye el mezclado completo de la muestra antes de su transferencia al *Diluyente* o al pocillo de microensayo.
6. Todas las diluciones deben efectuarse con *Diluyente*.

## PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. El contenido del kit debe atemperarse hasta la temperatura ambiente antes de su uso.
2. Preparar *Solución de lavado* 1x. El **Tampón de lavado concentrado** se suministra como concentrado 20x (se puede apreciar un precipitado). Se debe diluir hasta un volumen total de 1 litro añadiendo 50 mL del concentrado y 950 mL de agua destilada. La *Solución de lavado* 1x puede almacenarse a entre 2° y 8° C.
3. Todos los reactivos, a excepción del **Tampón de lavado concentrado**, se suministran en frascos listos para usar. Los reactivos pueden dispensarse directamente de los frascos con gotero o decantarse para su uso con pipetas multicanal. Si se ha decantado una cantidad excesiva de reactivo, deberá eliminarse el sobrante. No vuelva a introducirlo en el frasco. El *Sustrato* debe almacenarse y utilizarse del frasco protegido de la luz en el que se suministra. Si, por cualquier motivo, se elimina una alícuota del frasco original, no debe volver a introducirse el *Sustrato* no utilizado en el frasco original.

## PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

1. Fecales frescas / congeladas: Las muestras fecales congeladas deben descongelarse. Añadir 400 µL de *Diluyente* a un tubo de microcentrífuga (un tubo por muestra) y luego añadir 100 µL (2ª marca de graduación de la pipeta) de muestra fecal al tubo, y mezclar bien. Si la muestra no puede pipetarse, utilizar una varilla aplicadora para transferir aproximadamente 0,1 g de heces. Es decir, como el tamaño de un guisante (unos 4 mm de diámetro).
2. Fecales conservadas: Mezclar (con vórtex) el contenido del envase completamente antes de transferir la muestra. No es necesario efectuar más procesos o diluciones.

## PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Preparar tres pocillos de control para utilizarlos como controles positivos y negativos. Al primer pocillo de control positivo, añadir 1 gota (50 µL) de *Control positivo de Giardia* (tapón negro); al segundo pocillo de control positivo, añadir 1 gota (50 µL) de *Control positivo de Cryptosporidium* (tapón blanco) y al pocillo de control negativo añadir dos gotas (100 µL) de *Diluyente*.
2. Si se utilizan muestras frescas o congeladas, preparar la dilución como se indica más arriba en PREPARACIÓN DE MUESTRAS.
3. Transferir 100 µL de *Diluyente* a cada pocillo de prueba de la *Placa para microanálisis*. Utilizando pipetas de plástico, transferir 1 gota (50 µL, 1ª marca de graduación de la pipeta) de muestra (conservada o diluida como se indica arriba) a cada pocillo de prueba que ya contenga *Diluyente* y golpear suavemente los pocillos para que se mezclen. Sellar con la hoja adhesiva de plástico e incubar durante 1 hora a temperatura ambiente.

4. Vaciar el contenido de los pocillos de ensayo en una batea de eliminación. Lavar cada pocillo con la *Solución de lavado* 1x en un frasco con rociador con boquilla de punta fina, dirigiendo con fuerza la *Solución de lavado* al fondo del pocillo. Llenar los pocillos, eliminar la solución de lavado de los pocillos en una batea de eliminación y golpear la placa con fuerza sobre una toalla de papel seca. Repetir el proceso de lavado cuatro veces (para un total de cinco lavados). Si permanece algo de material fecal en los pocillos, lavar la placa hasta que se vea limpia.
5. Después del lavado, retire completamente cualquier líquido residual de los pocillos golpeando la placa sobre una toalla de papel seca hasta que no salga más líquido. Eliminar adecuadamente las toallas de papel y los contenedores de muestras.
6. Añadir una gota (50  $\mu\text{L}$ ) de *Conjugado* (tapón rojo) a cada pocillo y golpear suavemente para mezclarlos. Sellar con la hoja adhesiva de plástico. Incubar los pocillos durante 30 minutos a temperatura ambiente.
7. Repetir el procedimiento de lavado (pasos 4 y 5).
8. Añadir dos gotas (100  $\mu\text{L}$ ) de *Sustrato* (tapón azul) a cada pocillo. Golpear suavemente los pocillos para mezclarlos. Incubar los pocillos durante 10 minutos a temperatura ambiente.
9. Añadir una gota (50  $\mu\text{L}$ ) de *Solución de parada* (tapón amarillo) a cada pocillo. Golpear suavemente los pocillos para mezclarlos y esperar dos minutos antes de efectuar la lectura. La adición de *Solución de parada* convierte el color azul a amarillo, lo que puede cuantificarse determinando la absorbancia a 450 nm en un lector de microplacas de ELISA. El instrumento debe calibrarse con aire. Antes de determinar la absorbancia, limpiar la parte inferior de cada pocillo para retirar la humedad. Si se utiliza un lector dual, calibrar con aire a 620 nm y leer a 450 nm. Se registrarán las lecturas visuales. Leer a los 10 minutos de añadir la *Solución de parada*.

### CONTROL DE CALIDAD

1. El *Control positivo de Giardia*, el *Control positivo de Cryptosporidium* y el control negativo deben ejecutarse con cada serie de muestras de prueba.
2. Cada pocillo de control positivo deberá tener un color amarillo fácilmente visible y deberá dar un valor de absorbancia de 0,500 o superior. Todo pocillo que dé una lectura positiva sin color visible deberá ser colocado de nuevo, se deberá limpiar la parte inferior del mismo para limpiar la humedad y se leerá nuevamente.
3. Los pocillos de control negativo deberán ser incoloros o bien pueden tener un color amarillo pálido, pero el valor de absorbancia será  $< 0,150$  cuando se lean con una longitud de onda única ( $\text{OD}_{450 \text{ nm}}$ ) o de  $< 0,090$  cuando se lean con longitud de onda dual ( $\text{OD}_{450/620 \text{ nm}}$ ).
4. Los resultados de la prueba no son válidos hasta que no se cumplan las características de rendimiento de los controles positivo y negativo. Si estos resultados no se cumplen, llame al Servicio Técnico.
5. Los resultados de la prueba, junto con los valores de absorbancia de control, se registrarán y notificarán según los procedimientos internos y deben conservarse según los procedimientos internos para futuras referencias.

### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Absorbancia		Color Visual	Interpretación
450 nm	450/620 nm		
$< 0.150$	$< 0.090$	Transparente a amarillo pálido	Negativo - No se detecta antígeno Por debajo de los límites detectables del ensayo.
$\geq 0.150$	$\geq 0.090$	Amarillo pálido a amarillo intenso	Positivo - La muestra contiene antígeno de <i>Giardia</i> y/o antígeno de <i>Cryptosporidium</i> .

### Interpretación visual

**Negativo:** Toda muestra que sea incolora o se asemeje al pocillo de control negativo en intensidad de color. No se detecta antígeno. Por debajo de los límites detectables del ensayo.

**Positivo:** Toda muestra que sea claramente más amarilla que la muestra del pocillo de control negativo. La muestra contiene antígeno de *Giardia* y/o antígeno de *Cryptosporidium*.

NOTA: El control negativo, así como algunos pocillos de prueba, pueden mostrar un color amarillo pálido. La muestra debe ser evidentemente más amarilla que el control negativo para que el resultado se considere positivo.

### Interpretación espectrofotométrica

1. Determinar el valor de la absorbancia del control negativo.

La lectura del control negativo deberá ser  $< 0,150 \text{ OD}_{450 \text{ nm}}$  o  $< 0,090 \text{ OD}_{450/620 \text{ nm}}$

En caso contrario, la prueba no es válida y deberá repetirse, prestando atención al procedimiento de lavado.

2. Las lecturas del *Control Positivo* deben ser  $\geq 0,500$ .

3. Resultado de la prueba

**Negativo:**  $< 0,150$  (absorbancia a 450 nm) o  $< 0,090$  (absorbancia a 450/620 nm).

No se detecta antígeno. Por debajo de los límites detectables del ensayo.

**Positivo:**  $\geq 0,150$  (absorbancia a 450 nm) o  $\geq 0,090$  (absorbancia a 450/620 nm).

La muestra contiene antígeno de *Giardia* y/o antígeno de *Cryptosporidium*.

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. La prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> detecta la presencia de antígenos de *Giardia* y de *Cryptosporidium* en muestras fecales.
2. Los resultados de la prueba deberán ser interpretados por un médico teniendo en cuenta los demás resultados de laboratorio y la historia clínica.
3. No deben utilizarse muestras fecales concentradas con la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>, ya que no darán resultados exactos.
4. El valor predictivo de un resultado positivo disminuye cuando se analiza una población de baja prevalencia.
5. La prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> se utiliza para la detección cualitativa de antígenos de *Giardia* y de *Cryptosporidium* en muestras fecales. No se ha evaluado para las determinaciones cuantitativas de carga de microorganismos y la magnitud del valor de la absorbancia no se correlaciona necesariamente con la carga de microorganismos.

### VALORES ESPERADOS

Los sujetos sanos normales no deben estar infectados por *Giardia* o *Cryptosporidium* y deberían dar resultados negativos en la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>. Un resultado positivo de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> indica que la persona está diseminando cantidades detectables de antígeno de *Giardia* o de *Cryptosporidium*. La incidencia de infección por *Giardia* o *Cryptosporidium* varía significativamente entre diferentes poblaciones y regiones geográficas. Los niños que van a guarderías tienen mayores tasas de infección por *Giardia* que la población normal (21). Asimismo, los varones homosexuales presentan tasas de infección más elevadas (22). En general la incidencia de criptosporidiosis confirmada por laboratorio en países desarrollados oscila entre el 1% y el 2%, con una incidencia mayor en niños (32).

### CARACTERÍSTICAS DEL EJECUCIÓN

Un laboratorio de diagnóstico independiente evaluó la capacidad de detectar antígenos de *Giardia* y *Cryptosporidium* en muestras fecales conservadas de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>. De las 217 muestras analizadas por microscopía, 74

fueron positivas para *Giardia* y 44 fueron positivas para *Cryptosporidium*. Tres muestras fueron positivas tanto para *Giardia* como para *Cryptosporidium*. Cada muestra se analizó ulteriormente con la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>. Los resultados se resumen en las Tablas 1, 2 y 3.

**Tabla 1. Comparación de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> con microscopía para la detección de *Giardia* o *Cryptosporidium*.**

Muestras totales (n = 217)		Microscopía	
		Positiva	Negativa
<i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK</i> <sup>®</sup>	Positiva	121	0
	Negativa	3	93

		IC del 95%
Sensibilidad	97,6%	92,6% - 99,4%
Especificidad	100%	95,1% - 100%
Valor predictivo positivo	100%	96,2% - 100%
Valor predictivo negativo	96,9%	90,5% - 99,2%
Correlación	98,6%	98,2% - 98,9%

**Tabla 2. Comparación de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> con microscopía para la detección de *Giardia* solamente. Todas las muestras de este conjunto de datos fueron negativas para *Cryptosporidium* por microscopía.**

Muestras totales (n = 167)		Microscopía - <i>Giardia</i>	
		Positiva	Negativa
<i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK</i> <sup>®</sup>	Positiva	74	0
	Negativa	0	93

		95% CI
Sensibilidad	100%	93,9% - 100%
Especificidad	100%	95,1% - 100%
Valor predictivo positivo	100%	93,9% - 100%
Valor predictivo negativo	100%	95,1% - 100%
Correlación	100%	100% - 100%



**Tabla 3. Comparación de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> con microscopía para la detección de *Cryptosporidium* solamente. Todas las muestras de este conjunto de datos fueron negativas para *Giardia* por microscopía.**

Muestras totales (n = 140)		Microscopía - <i>Cryptosporidium</i>	
		Positiva	Negativa
<i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK</i> <sup>®</sup>	Positiva	44	0
	Negativa	3	93

		95% CI
Sensibilidad	93,6%	81,4% - 98,3%
Especificidad	100%	95,1% - 100%
Valor predictivo positivo	100%	90,0% - 100%
Valor predictivo negativo	96,9%	90,5% - 99,2%
Correlación	97,9%	97,1% - 98,4%

### REACCIONES CRUZADAS

Un laboratorio diagnóstico independiente evaluó la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> utilizando muestras fecales positivas a una serie de patógenos intestinales. No se observó reactividad cruzada con las muestras fecales que contenían alguno de los patógenos enumerados a continuación. El número de muestras analizadas con cada microorganismo se muestra entre paréntesis.

<i>Ascaris lumbricoides</i> eggs (26)	<i>Entamoeba coli</i> (17)
<i>Blastocystis hominis</i> (31)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (4)
<i>Chilomastix mesnili</i> (2)	<i>Enterobius vermicularis</i> eggs (6)
<i>Cyclospora cayentanensis</i> (1)	<i>Hymenolepis nana</i> eggs (4)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (10)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (4)
<i>Diphyllobothrium latum</i> eggs (1)	<i>Strongyloides stercoralis</i> larvae (2)
<i>Endolimax nana</i> (36)	<i>Taenia</i> spp. eggs (2)
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (9)	<i>Trichuris trichiura</i> eggs (20)

Se evaluó la reactividad cruzada de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> con las cepas bacterianas y víricas enumeradas a continuación. Ninguna de las cepas mostró reactividad cruzada con la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>.

<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC (enterotoxic)
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	<i>Escherichia coli</i> EPEC (enteropathogenic)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC (enteroinvasive)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Campylobacter coli</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Clostridium difficile</i>
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>

Adenovirus type 1	Adenovirus type 2	Adenovirus type 3
Adenovirus type 5	Adenovirus type 40	Adenovirus type 41
Human coronavirus	Coxsackievirus B2	Coxsackievirus B3
Coxsackievirus B4	Coxsackievirus B5	Echovirus 9
Echovirus 11	Echovirus 18	Echovirus 22
Echovirus 33	Enterovirus type 68	Enterovirus type 69
Enterovirus type 70	Enterovirus type 71	

### SUSTANCIAS INTERFERENTES

Las siguientes sustancias no tuvieron ningún efecto en los resultados positivos o negativos de la prueba analizadas a las concentraciones indicadas: mucina (3,5% p/v), sangre humana (40% v/v), Imodium® (5% p/v), Kaopectate® (5 mg/mL), Pepto-Bismol® (5% p/v), grasa fecal (ácido estérico - 40% p/v), metronidazol (0,25% p/v), vancomicina (0,25% p/v).

### COMPATIBILIDAD CON LOS CONSERVANTES DE MUESTRAS

Se estudió la compatibilidad de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® con muestras fecales conservadas durante una evaluación interna. No se observó ninguna disminución de la sensibilidad o especificidad con las muestras conservadas en formol tamponado al 10% o en acetato sódico-formol (SAF) cuando se comparó con muestras frescas y congeladas.

### PRECISIÓN – INTRAANALÍTICA

El porcentaje de coeficiente de variación (CV) intraanalítico se determinó analizando seis muestras fecales positivas (tres positivas para *Giardia* y tres positivas para *Cryptosporidium*) y dos muestras fecales negativas. Cada muestra se analizó en doce pocillos de prueba. El porcentaje del CV de las muestras positivas oscilaba entre 1,5 y 12,2, con una media de 6,3. El porcentaje del CV de las muestras negativas oscilaba entre 3,2 y 3,5, con una media de 3,4.

### PRECISIÓN – INTERANALÍTICA

Para la determinación del rendimiento interanalítico, se analizaron seis muestras fecales positivas (tres positivas para *Giardia* y tres positivas para *Cryptosporidium*) y dos muestras fecales negativas un total de cinco veces durante un período de 5 días utilizando el kit *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*®. El porcentaje del coeficiente de variación (CV) de las muestras positivas oscilaba entre 0,3 y 18,1, con un CV promedio de 7,4. El porcentaje del CV de las muestras negativas oscilaba entre 4,1 y 7,7, con una media de 5,9.

# GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK® - DEUTSCH

## ANWENDUNGSZWECK

*GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK®* ist eine Enzym-Immun-Analyse für den qualitativen Nachweis des Antigens gegen *Giardia*-Zysten und *Cryptosporidium*-Oozysten in menschlichen Stuhlproben. Der Test dient als Hilfsmittel bei der Diagnose für Diarrhoe-Patienten, bei denen eine Magen-Darm-Infektion mit *Giardia* und/oder *Cryptosporidium* vermutet wird.

Achtung: Gemäß US-Bundesgesetz ist der Verkauf dieses Produkts an Ärzte bzw. auf Anordnung eines Arztes beschränkt.

## ERLÄUTERUNGEN

*Giardia* spp. ist ein zweikerniger, begeißelter, protozoischer Parasit, der in zwei Formen vorkommt: als nicht-infektiöser, birnenförmiger Trophozoit (9 bis 20 µm), der im Dünndarm lebt, sowie als hochinfektiöse Zyste, die eine elliptische Form und eine Größe zwischen 8 und 12 µm aufweist (1). Die beiden Formen unterscheiden sich stark in ihrer Überlebensfähigkeit außerhalb des Wirtes: Der Trophozoit ist äußerst labil und überlebt nur wenige Stunden außerhalb des Körpers, während die Zyste mehrere Tage in einer externen Umgebung überleben kann (1). Der Parasit ist für Infektionen durch kontaminiertes Wasser verantwortlich. Es wurde die Einschleppung von Giardiasis aus endemischen Gebieten durch Reisende beobachtet (2-5). Die Übertragung geschieht auch durch direkten Kontakt besonders mit asymptomatischen Trägern und durch kontaminierte Nahrungsmittel (6,7). Hochrisikogruppen sind Kleinkinder, immungeschwächte Patienten sowie Personen ohne vorherigen Kontakt mit dem Erreger (8). In jüngerer Zeit wird Giardiasis häufig auch sexuell übertragen (9). Die Kontamination mit tierischen Fäkalien, insbesondere von Wasser, stellt einen weiteren Übertragungsweg beim Menschen dar (4,10,11).

Die klinischen Manifestationen der Giardiasis reichen von der asymptomatischen Trägerschaft mit der Weitergabe von Zysten bis zur chronischen, schwächenden Diarrhoe, Gewichtsverlust und Malabsorption (8,12,13). Die am häufigsten verwendete Diagnosemethode für Giardiasis ist die Mikroskopie. Dieses Verfahren erfordert jedoch ein hohes Maß an Erfahrung und das Vorhandensein intakter Zysten im Stuhl. Eine Alternative stellt der ELISA-Test dar. Dieses Verfahren ist sehr leicht durchzuführen und weist im Vergleich zur mikroskopischen Untersuchung eine höhere Sensitivität auf. Bei der Mikroskopie werden die Stuhlproben mit verschiedenen Methoden untersucht (14), und die Genauigkeit der Ergebnisse hängt von der Fertigkeit der Laborkraft ab. Die Erfolgsrate der Stuhlprobenuntersuchung liegt zwischen 50 % und 70 % (15,16), und zur Stellung einer Diagnose sind in der Regel mehrere Proben erforderlich. Giardiasis kann auch vorliegen, wenn keine vollständigen Organismen vorhanden sind, und lässt sich mit anderen Erkrankungen wie Morbus Crohn und Colitis ulcerosa verwechseln (17). Wenn eine Infektion vorhanden ist aber keine Parasiten nachgewiesen werden, kann eine Duodenalsaftprobe entnommen und auf Trophozoiten getestet werden. Diese Methode ist jedoch invasiv und teuer (14,16). Der Nachweis der Organismen und Antigene mit einem ELISA-Test stellt eine alternative Methode zur Sicherung einer Diagnose mit hoher Sensitivität und Spezifität dar (18-20). Große Probenmengen können rasch und objektiv getestet werden, und das Verfahren ist weniger arbeitsintensiv als die meisten mikroskopischen Methoden.

*Cryptosporidium* spp. ist ein protozoischer Parasit von Vertebraten, von dem man früher annahm, dass er nur bei Tieren Diarrhoe erzeugt (23). Im Jahre 1976 wurde die erste menschliche Infektion berichtet (24). Seitdem hat man festgestellt, dass der Erreger in den meisten Teilen der Welt mit Durchfallerkrankungen assoziiert ist und eine häufige Ursache der Reise-Diarrhoe darstellt (23,25). Die Erkrankung wird durch die dickwandige Oozystenform übertragen, die einen Durchmesser von 2-6 µm aufweist und erstaunlich resistent gegen verbreitete Desinfektionsmittel und routinemäßige Chlorierung des Trinkwassers ist. Die Übertragung von Mensch zu Mensch, besonders bei Kindern, ist weit

verbreitet (26). *Cryptosporidium* weist eine geringe oder gar keine Wirtsspezifität auf, und Tiere wie Nager, Vieh und Haustiere fungieren als Träger für die zoonotische Übertragung auf den Menschen (23,27). Diese geschieht entweder durch direkten Kontakt oder durch Kontaminierung des Wassers mit Fäkalien (23,28-30). Kryptosporidiose ist eine schwere, opportunistische Infektion bei Patienten mit erworbenem Immunschwächesyndrom (AIDS) und wird potenziell sexuell übertragen (28,31).

Klinische Manifestationen der Kryptosporidiose sind choleraartige Diarrhoe, Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen und Gewichtsverlust. Bei Gesunden ist die Infektion in der Regel von kurzer Dauer und selbstlimitierend. Bei AIDS-Patienten und immungeschwächten Personen kann Kryptosporidiose zu einer lang andauernden und aufgrund exzessiven Flüssigkeitsverlusts lebensbedrohlichen Erkrankung werden. Bei diesen Patienten kann sich die Infektion auch auf die Atem- und Gallenwege ausbreiten (28).

## WIRKUNGSWEISE DES TESTS

Der **GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK®**-Test benutzt monoklonale und polyklonale Antikörper gegen Zelloberflächenantigene von *Giardia* und ein Oozystenantigen von *Cryptosporidium*. Die *Mikrotiterplatte* ist mit immobilisierten monoklonalen Antikörpern beschichtet, die gegen die Antigene gerichtet sind. Das *Konjugat* besteht aus polyklonalen Antikörpern gegen die Antigene. In der Analyse wird ein Aliquot einer verdünnten Stuhlprobe in eine Vertiefung der Mikrotiterplatte übertragen. Wenn die immobilisierten monoklonalen Antikörper in der Stuhlprobe vorhanden sind, dann werden sie an die *Giardia*- und *Cryptosporidium*-Antigene gebunden. Wenn das *Konjugat* zugegeben wird, bindet es sich an den Komplex aus Antigen und Antikörper. Nicht gebundene Bestandteile werden dann gewaschen. Daraufhin wird Substrat hinzugefügt und eine Farbe nachgewiesen, die durch die Enzym-Antikörper-Antigen-Komplexe bewirkt wird, die sich in der Gegenwart von *Giardia*- und/oder *Cryptosporidium*-Antigenen und *Konjugat* gebildet haben.

## PACKUNGSIHALT

CONJ   ENZ	<b>Konjugat</b> , 7 ml polyklonale Antikörper (Kaninchen) gegen ein Zelloberflächenantigen von <i>Giardia</i> sowie polyklonaler Kaninchen-Antikörper gegen ein Zelloberflächenantigen von <i>Cryptosporidium</i> in einer gepufferten Proteinlösung + 0,02 % Thimerosal*.	
DIL   SPE	<b>Verdünnungspuffer</b> , 50 ml gepufferte Proteinlösung + 0,02 % Thimerosal*. Das <i>Verdünnungspuffer</i> kann auch als negatives Kontrollmittel verwendet werden (siehe TESTVERFAHREN).	
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>   0.6N	<b>Stopflösung</b> , 7 ml, 0,6 N Schwefelsäure. ACHTUNG: Hautkontakt vermeiden. Sofort mit Wasser spülen, wenn Hautkontakt erfolgt. Signalwort: Gefahr H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353, P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501	
CONTROL   +	<b>Positive Giardia-Kontrolle</b> , 3,5 ml, <i>Giardia</i> -Antigen in einer gepufferten Proteinlösung + 0,02 % Thimerosal*.	
CONTROL   +	<b>Positive Cryptosporidium-Kontrolle</b> , 3,5 ml Hitzeinaktiviertes fäkales Material vom Rind mit <i>Cryptosporidium</i> -Antigen in einer gepufferten Proteinlösung + 0,02 % Thimerosal*.	
SUBS   REAG	<b>Substrat</b> , 14 ml, Lösung enthält Tetramethylbenzidine und Peroxyde.	
WASHBUF   20X	<b>Waschpufferkonzentrat</b> , 50 ml, 20X Konzentrat, enthält phosphatgepufferte Kochsalzlösung, Reinigungsmittel und 0,02 % Thimerosal*. Signalwort: Warnung H373: Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition H411: Giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung. P260, P273, P314, P391, P501	 

MA | PLT

**Mikrotiterplatte**, 12 Streifen, jeder Streifen enthält 8 Schalenvertiefungen, die mit monoklonalen Antikörpern gegen *Giardia*-Zelloberflächenantigen und monoklonalen Antikörpern gegen *Cryptosporidium*-Oozystenantigen beschichtet sind (mit Trockenmittel gelagert).

\*enthält Quecksilber



## 2 Klebefolien

## 100 Einmal-Pipetten aus Plastik

### NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

Spritzflasche für Waschreagenz

Vortex-Schüttler

960 ml destilliertes Wasser zur Verdünnung des Waschreagenz

Abfallbehälter

Papiertücher und saugfähiges Material

Applikatorstäbchen

Kleine Reagenzgläser (z.B. Mikrozentrifugenröhrchen)

*Spektrophotometer* mit dualer Lesekapazität für 450 nm oder 450/620 nm Wellenlänge

### VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Rx Only - Verschreibungspflichtig
2. *In-vitro*-Diagnostikum. Nur für den professionellen Gebrauch.
3. Reagenzien von verschiedenen Sets dürfen nicht gemischt werden. Benutzen Sie das Analyse-Set nicht nach dem Verfallsdatum.
4. Reagenzien sollten Raumtemperatur haben, bevor sie verwendet werden.
5. Verschlüsse und Fläschchen sind farbkodiert; nicht vertauschen!
6. Alle Bestandteile des Sets müssen auf Anzeichen auf Undichtigkeit untersucht werden. Bei Erhalt muss das Set darauf untersucht werden, dass die Komponenten nicht wegen unsachgemäßer Transportbedingungen gefroren oder zu warm sind.
7. Vermeiden Sie den Boden der Analyse-Schalen zu verkratzen, da dies zu erhöhten Absorbierungswerten führen kann.
8. Halten Sie Tropfflaschen senkrecht, damit die korrekte Tropfengröße sichergestellt wird.
9. Unbenutzte Mikrotiter Analyse-Schalen müssen mit dem Trockenmittel in den wiederverschließbaren Plastikbeutel zurückgelegt werden, damit sie vor Feuchtigkeit geschützt sind.
10. Waschen Sie die Schalen wie vorgeschrieben, um hohe Hintergrundreaktionen zu vermeiden.
11. Das *Substrat* ist lichtempfindlich und sollte daher vor direkter Sonneneinstrahlung oder UV-Lichtquellen geschützt werden. Wenn das *Substrat* Licht ausgesetzt wird und eine Färbung entwickelt, muss es entsorgt werden.
12. Optimale Ergebnisse werden erreicht, wenn die angegebene Testverfahren eingehalten werden. Konzentrationen, Inkubationsbedingungen und Verfahrensdetails wurden in Bezug auf Sensibilität und Genauigkeit optimiert. Abweichungen von den angegebenen Verfahren und/oder Testbedingungen können die Sensibilität und Genauigkeit Tests beeinflussen.
13. Eine mikrobielle Kontamination kann die Genauigkeit des Tests beeinträchtigen. Vermeiden Sie mikrobielle Kontaminationen der Reagenzien durch Verwenden steriler Einweg-Pipetten für die Reagenzienentnahme aus den Flaschen.
14. Behandeln Sie die Proben und gebrauchten Kavitäten als infektiöses Material. Tragen Sie während der Durchführung des Tests Einweghandschuhe.
15. Das 20-fache *Waschpufferkonzentrat* enthält 0,2 % Thimerosal als Konservierungsmittel. Sobald sie auf normale Gebrauchskonzentration verdünnt ist, wird diese Lösung als ungefährlich eingestuft. Die *Stopplösung* enthält 0,6 N Schwefelsäure. Bei Kontakt sofort mit Wasser abspülen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Reagenzien gemäß vorhandenen Vorschriften für die Laborsicherheit und gute Laborpraxis behandeln.

Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Nachfrage erhältlich. Wenden Sie sich an den technischen Support.

16. Befolgen Sie Ihre nationalen, regionalen und lokalen Verordnungen in Bezug auf die Abfallentsorgung. Nicht zum Hausmüll geben, als gefährlichen Abfall entsorgen.

### HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum ist auf dem Packungsetikett angegeben. Verfallsdaten für die einzelnen Komponenten sind auf den Komponentenetiketten angegeben. Das Analyse-Set sollte bei Temperaturen zwischen 2 °C und 8 °C gelagert und nach dem Gebrauch so schnell wie möglich wieder in den Kühlschrank zurückgelegt werden.

### ENTNAHME UND LAGERUNG DER STUHLPROBEN

1. Die üblichen Labormethoden für die Entnahme und Handhabung von Stuhlproben für Kulturen sind geeignet. Die Entnahmemethoden für die zur Untersuchung von Eiern und Parasiten üblichen Mikroskopieverfahren können unverändert übernommen werden. Stuhlproben können ohne Konservierung, gefroren oder in 10 % gepuffertem Formalin oder Natriumacetat-Formalin (NAF) als Konservierungsmedium verwendet werden.
2. Nicht konservierte Proben müssen zwischen 2 °C und 8 °C gelagert und innerhalb von 24 Stunden nach der Entnahme getestet werden. Proben, die nicht innerhalb dieser Zeit getestet werden können, müssen bis zum Test bei mindestens -20 °C eingefroren werden.
3. Konservierte Proben können bei Raumtemperatur gelagert und innerhalb von 18 Monaten nach der Entnahme getestet werden.
4. Konzentrationschritte sind für Stuhlproben nicht erforderlich (und nicht empfehlenswert).
5. Stellen Sie sicher, dass die Proben vor der Testdurchführung gründlich gemischt werden (Vortexen). Insbesondere müssen sie vor der Übertragung in den *Verdünnungspuffer* und/oder die Mikrotiterplatte vollständig gemischt werden.
6. Alle Verdünnungen müssen mit dem *Verdünnungspuffer* vorgenommen werden.

### VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

1. Alle Reagenzien müssen vor dem Gebrauch Raumtemperatur annehmen.
2. Bereiten Sie *1X-Reinigungsflüssigkeit* vor. Das *Waschpufferkonzentrat* wird als 20X-Konzentrat geliefert (möglicherweise ist Ausfall sichtbar). Verdünnen Sie es auf ein Gesamtvolumen von 1 Liter, indem Sie 50 ml des Konzentrats zu 950 ml destilliertem Wasser hinzufügen. Lagern Sie eventuelle Restmengen der *1X-Reinigungsflüssigkeit* zwischen 2 °C und 8 °C.
3. Mit Ausnahme des *Waschpufferkonzentrats* werden alle Reagenzien in gebrauchsfertigen Flaschen geliefert. Die Reagenzien können direkt aus den Tropfflaschen dispensiert oder für Mehrkanalpipetten dekantiert werden. Wenn überschüssiges Reagenz dekantiert wird, muss der Überschuss entsorgt werden. Nicht zurück in die Flasche gießen. Das *Substrat* muss in der lichtgeschützten Flasche, in der es geliefert wurde, gelagert und direkt aus dieser verwendet werden. Wenn aus der Originalflasche aus irgendeinem Grund ein Aliquot entnommen wurde, darf nicht verwendetes *Substrat* nicht wieder zurück in die Originalflasche gegeben werden.

### VORBEREITUNG DER PROBEN

1. Frische/Gefrorene Stuhlproben: Gefrorene Stuhlproben müssen aufgetaut werden. Geben Sie 400 µl *Verdünnungspuffer* in ein Mikrozentrifugenröhrchen (ein Röhrchen pro Probe), und fügen Sie dann 100 µl (2. Skalenstrich auf der Pipette) der Stuhlprobe hinzu. Gut mischen. Wenn die Probe nicht pipettiert werden kann, übertragen Sie etwa 0,1 Gramm Stuhl mit einem Applikatorstäbchen. Dies entspricht etwa der Größe einer kleinen Erbse (Durchmesser ca. 4 mm).

2. Konservierte Stuhlproben: Mischen (vortexen) Sie den Behälterinhalt gründlich, bevor Sie die Probe übertragen. Eine weitere Verarbeitung oder Verdünnung ist nicht erforderlich.

## TESTVERFAHREN

1. Bereiten Sie drei Kontrollvertiefungen für die positive und negative Kontrolle vor. Geben Sie in die erste Vertiefung für die positive Kontrolle 1 Tropfen (50 µl) positive *Giardia-Kontrolle* (schwarzer Verschluss), in die zweite Vertiefung für die positive Kontrolle 1 Tropfen (50 µl) positive *Cryptosporidium-Kontrolle* (weißer Verschluss) und in die Vertiefung für die negative Kontrolle 2 Tropfen (100 µl) *Verdünnungspuffer*.
2. Falls Sie frische oder gefrorene (d.h. nicht konservierte) Proben verwenden, nehmen Sie eine Verdünnung vor, wie oben unter VORBEREITUNG DER PROBEN beschrieben.
3. Übertragen Sie 100 µl *Verdünnungspuffer* in jede Testvertiefung der *Mikrotiterplatte*. Übertragen Sie mit Kunststoffpipetten 1 Tropfen (50 µl, 1. Skalenstrich auf der Pipette) Probe (konserviert oder verdünnt wie oben) in jede Testvertiefung, die bereits *Verdünnungspuffer* enthält, und klopfen Sie zum Mischen sanft gegen die Vertiefungen. Verschließen Sie die Platte mit einem Kunststoff-Klebebogen und inkubieren Sie 1 Stunde lang bei Raumtemperatur.
4. Schütteln Sie den Inhalt der Testvertiefungen in einen Abfallbehälter. Waschen Sie jede Schalenvertiefung mit der *1X-Reinigungsflüssigkeit* aus einer Spritzflasche mit feiner Düse gut aus, indem Sie die *Reinigungsflüssigkeit* jeweils kräftig auf den Boden der Vertiefung spritzen. Füllen Sie die Schalenvertiefungen mit der Reinigungsflüssigkeit und entleeren Sie dann die Schalen in einen Abfallbehälter. Klopfen Sie die umgedrehten Schalen kräftig auf ein trockenes Papiertuch. Wiederholen Sie diesen Schritt 4 Mal (insgesamt 5 Waschvorgänge). Falls noch Stuhlreste in den Schalen zurückgeblieben sind, waschen Sie diese solange aus, bis alle Reste entfernt sind.
5. Entfernen Sie nach dem Waschen alle Flüssigkeitsreste aus den vollständig Schalen, indem Sie diese auf einem trockenen Papiertuch ausschlagen, bis keine Flüssigkeit mehr abgegeben wird. Entsorgen Sie die Papiertücher und Probengefäße ordnungsgemäß.
6. Geben Sie in jede Schalenvertiefung 1 Tropfen (50 µl) *Konjugat* (roter Verschluss) und klopfen Sie zum Mischen sanft gegen die Schalen. Verschließen Sie alles mit einem Kunststoff-Klebebogen. Inkubieren Sie die Schalen 30 Minuten lang bei Raumtemperatur.
7. Wiederholen Sie das Waschverfahren (Schritte 4 und 5).
8. Geben Sie 2 Tropfen (100 µl) *Substrat* (blauer Verschluss) in jede Schalenvertiefung. Klopfen Sie zum Mischen sanft gegen die Schalen. Inkubieren Sie die Vertiefungen 10 Minuten lang bei Raumtemperatur.
9. Geben Sie 1 Tropfen (50 µl) *Stopplösung* (gelber Verschluss) in jede Schalenvertiefung. Klopfen Sie zum Mischen sanft gegen die Schalen, und warten Sie 2 Minuten bis zum Ablesen. Durch Zugabe der Stopplösung wandelt sich die blaue Färbung in eine gelbe Färbung um. Dieser Effekt kann quantifiziert werden, indem die Absorption bei 450 nm mit einem ELISA-Mikroplattenleser gemessen wird. Der Abgleich des Nullwertes erfolgt gegen Luft. Wischen Sie vor der Messung die Unterseite der Schalenvertiefung ab. Wenn Sie ein Lesegerät für zwei Wellenlängen benutzen, führen Sie den Abgleich des Nullwertes bei 620 nm durch, und lesen Sie das Testergebnis bei 450 nm ab. Visuelle Ableseergebnisse müssen notiert werden. Lesen Sie innerhalb von zehn Minuten nach Zugabe der *Stopplösung* ab.

## QUALITÄTSKONTROLLE

1. Jede Testserie muss eine positive *Giardia-Kontrolle*, eine positive *Cryptosporidium-Kontrolle* und eine negative Kontrolle umfassen.
2. Jede positive Kontrolle sollte eine gut sichtbare gelbe Färbung und eine Absorption von mindestens 0,500 ergeben. Vertiefungen, die einen positiven Messwert aber keine sichtbare Färbung ergeben, müssen neu positioniert, zur Entfernung von Feuchtigkeit an der Unterseite abgewischt und nochmals abgelesen werden.
3. Die Negativkontrollen sollten keine oder nur eine schwache Färbung aufweisen. Ihr Absorptionswert muss  $< 0,150$  bei Messung bei einer einzelnen Wellenlänge (OD450nm) bzw.  $< 0,090$  bei Messung bei zwei Wellenlängen (OD450/620nm) betragen.

- Die Testergebnisse sind nur dann gültig, wenn die Leistungsdaten der positiven und negativen Kontrollen erfüllt sind. Wenden Sie sich an den technischen Kundendienst, wenn Sie diese Ergebnisse nicht erhalten.
- Die Testergebnisse müssen zusammen mit den Absorptionswerten gemäß der Verfahrensweise des Labors aufgezeichnet und berichtet sowie für späteren Gebrauch archiviert werden.

### INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

Absorption

450 nm	450/620 nm	Sichtbare Farbe	Interpretation
< 0,150	< 0,090	Farblos bis schwach gelb	Negativ – kein Antigen nachgewiesen Unter der Nachweisgrenze des Tests.
≥ 0,150	≥ 0,090	Blassgelb bis kräftig gelb	Positiv – Probe enthält <i>Giardia</i> - und/oder <i>Cryptosporidium</i> -Antigen

#### Visuelles Ablesen

**Negativ:** Jede Probe, die keine Färbung oder eine Färbung von der gleichen Intensität wie die negative Kontrolle aufweist. Es wurde kein Antigen nachgewiesen. Unter der Nachweisgrenze des Tests.

**Positiv:** Jede Probe, die ein deutlich intensiveres Gelb als die negative Kontrolle aufweist. Die Probe enthält *Giardia*- und/oder *Cryptosporidium*-Antigen.

BITTE BEACHTEN: Die negative Kontrolle kann ebenso wie auch einige Testvertiefungen eine schwach gelbe Färbung aufweisen. Ein Ergebnis kann nur dann als positiv betrachtet werden, wenn das Gelb deutlich intensiver als bei der negativen Kontrolle ist.

#### Spektrophotometrische Interpretation

- Bestimmen Sie den Absorptionswert der negativen Kontrolle.  
Der Messwert der negativen Kontrolle muss  $< 0,150 \text{ OD}_{450}$  bzw.  $< 0,090 \text{ OD}_{450/620}$  betragen. Andernfalls ist der Test ungültig und muss unter besonderer Beachtung des Waschverfahrens wiederholt werden.
- Der Messwert für die *positive Kontrolle* muss  $\geq 0,500$  betragen.
- Testergebnisse  
Negativ:  $< 0,150$  (Absorption bei 450 nm) oder  $< 0,090$  (Absorption bei 450/620 nm).  
Es wurde kein Antigen nachgewiesen. Unter der Nachweisgrenze des Tests.  
Positiv:  $\geq 0,150$  (Absorption bei 450 nm) oder  $\geq 0,090$  (Absorption bei 450/620 nm).  
Die Probe enthält *Giardia*- und/oder *Cryptosporidium*-Antigen.

### GRENZEN DES VERFAHRENS

- Das *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>-Verfahren weist *Giardia*- und *Cryptosporidium*-Antigene in Stuhlproben nach.
- Die Testergebnisse müssen im Zusammenhang mit weiteren Laborergebnissen und der Krankengeschichte durch einen Arzt interpretiert werden.
- Mit dem *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>-Test sollten keine konzentrierten Stuhlproben getestet werden; sie ergeben keine richtigen Ergebnisse.
- Der Vorhersagewert eines positiven Ergebnisses ist bei Tests in einer Population von geringer Prävalenz reduziert.
- Der *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>-Test dient zum qualitativen Nachweis von *Giardia*- und *Cryptosporidium*-Antigenen in Stuhlproben. Er wurde nicht für eine quantitative Bestimmung der Organismenmenge evaluiert, und es ist keine Korrelation der Größe des Absorptionswerts mit der Organismenmenge vorgesehen.

### ERWARTUNGSWERTE

Normale, gesunde Personen sollten nicht mit *Giardia* oder *Cryptosporidium* infiziert sein und im *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>-Test negative Werte liefern. Ein positives Ergebnis im *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>-Test weist darauf hin, dass



die Person nachweisbare Mengen von *Giardia*- bzw. *Cryptosporidium*-Antigen ausschüttet. Die Häufigkeit von *Giardia*- und *Cryptosporidium*-Infektionen variiert beträchtlich je nach Population und geographischer Region. Bei Kindern in Tagesstätten wurden höhere *Giardia*-Infektionsraten als in der normalen Bevölkerung festgestellt (21). Außerdem haben sich bei homosexuellen Männern höhere Infektionsraten ergeben (22). Allgemein liegt die durch Laboruntersuchungen belegte Häufigkeit von Kryptosporidiose in entwickelten Ländern insgesamt zwischen 1 % und 2 %, mit einer größeren Häufigkeit bei Kindern (32).

### LEISTUNGSMERKMALE

Der *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>-Test wurde durch ein unabhängiges Diagnoselabor auf seine Fähigkeit geprüft, *Giardia*- und *Cryptosporidium*-Antigene in konservierten Stuhlproben nachzuweisen. Von den 217 mikroskopisch analysierten Proben waren 74 *Giardia*-positiv und 44 *Cryptosporidium*-positiv. Drei Proben waren sowohl für *Giardia* als auch *Cryptosporidium* positiv. Anschließend wurde jede Probe mit dem *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>-Test getestet. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 1, 2 und 3 zusammengefasst.

**Tabelle 1. Vergleich des *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>-Tests mit der Mikroskopie hinsichtlich des Nachweises von *Giardia* und/oder *Cryptosporidium*.**

Proben insgesamt (n = 217)		Mikroskopie	
		positiv	negativ
<i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK</i> <sup>®</sup>	positiv	121	0
	negativ	3	93

		95% CI
Sensitivität	97,6%	92,6% - 99,4%
Spezifität	100%	95,1% - 100%
Positiver Vorhersagewert	100%	96,2% - 100%
Negativer Vorhersagewert	96,9%	90,5% - 99,2%
Korrelation	98,6%	98,2% - 98,9%

**Tabelle 2. Vergleich des *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>-Tests mit der Mikroskopie hinsichtlich des Nachweises von *Giardia* allein. Alle Proben dieser Daten hatten sich bei der Mikroskopie als *Cryptosporidium*-negativ erwiesen.**

Proben insgesamt (n = 167)		Mikroskopie - <i>Giardia</i>	
		positiv	negativ
<i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK</i> <sup>®</sup>	positiv	74	0
	negativ	0	93

		95% CI
Sensitivität	100%	93,9% - 100%
Spezifität	100%	95,1% - 100%
Positiver Vorhersagewert	100%	93,9% - 100%
Negativer Vorhersagewert	100%	95,1% - 100%
Korrelation	100%	100% - 100%

**Tabelle 3. Vergleich des GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK®-Tests mit der Mikroskopie hinsichtlich des Nachweises von *Cryptosporidium* allein. Alle Proben dieser Daten hatten sich bei der Mikroskopie als *Giardia*-negativ erwiesen.**

Proben insgesamt (n = 140)		Mikroskopie - <i>Cryptosporidium</i>	
		positiv	negativ
GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK®	positiv	44	0
	negativ	3	93

		95% CI
Sensitivität	93,6%	81,4% - 98,3%
Spezifität	100%	95,1% - 100%
Positiver Vorhersagewert	100%	90,0% - 100%
Negativer Vorhersagewert	96,9%	90,5% - 99,2%
Korrelation	97,9%	97,1% - 98,4%

### KREUZREAKTIVITÄT

Der GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK®-Test wurde durch ein unabhängiges Diagnoselabor mit Stuhlproben geprüft, die sich als positiv für eine Reihe von Darm-Pathogenen erwiesen hatten. Es wurde keine Kreuzreaktivität für Stuhlproben beobachtet, die eines der unten genannten Pathogene enthielten. Die Anzahl der mit dem jeweiligen Organismus getesteten Proben ist in Klammern angegeben.

<i>Ascaris lumbricoides</i> eggs (26)	<i>Entamoeba coli</i> (17)
<i>Blastocystis hominis</i> (31)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (4)
<i>Chilomastix mesnili</i> (2)	<i>Enterobius vermicularis</i> eggs (6)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (1)	<i>Hymenolepis nana</i> eggs (4)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (10)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (4)
<i>Diphyllobothrium latum</i> eggs (*)	<i>Strongyloides stercoralis</i> larvae (2)
<i>Endolimax nana</i> (36)	<i>Taenia</i> spp. eggs (2)
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (9)	<i>Trichuris trichiura</i> eggs (20)

Der GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK®-Test wurde auf Kreuzreaktivität mit den unten genannten Bakterien- und Virenstämmen geprüft. Keiner dieser Stämme zeigte eine Kreuzreaktivität mit dem GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK®-Test.

<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC (enterotoxig)	
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	<i>Escherichia coli</i> EPEC (enteropathogenic)	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC (enteroinvasive)	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	
<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>	
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Campylobacter coli</i>	
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Clostridium difficile</i>	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>	
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	
Adenovirus type 1	Adenovirus type 2	Adenovirus type 3
Adenovirus type 5	Adenovirus type 40	Adenovirus type 41

Human coronavirus	Coxsackievirus B2	Coxsackievirus B3
Coxsackievirus B4	Coxsackievirus B5	Echovirus 9
Echovirus 11	Echovirus 18	Echovirus 22
Echovirus 33	Enterovirus type 68	Enterovirus type 69
Enterovirus type 70	Enterovirus type 71	

### INTERFERENZSUBSTANZEN

Die folgenden Substanzen hatten in den angegebenen Konzentrationen keinen Einfluss auf die positiven oder negativen Testergebnisse. Mucin (3,5 % w/v), humanes Blut (40 % w/v), Imodium® (5 % w/v), Kaopectate® (5 mg/ml), Pepto-Bismol® (5 % w/v), Fäkal Fett (Stearinsäure – 40 % w/v), Metronidazol (0,25 % w/v), Vancomycin (0,25 % w/v).

### KOMPATIBILITÄT ZWISCHEN STUHLPROBE UND KONSERVIERUNGSMITTEL

Der *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*®-Test wurde intern auf Kompatibilität mit konservierten Stuhlproben untersucht. Bei Stuhlproben, die in 10 % gepuffertem Formalin oder Natriumacetat-Formalin (NAF) konserviert waren, wurde keine Abnahme der Sensitivität oder Spezifität im Vergleich zu frischen und gefrorenen Proben festgestellt.

### INTRA-ASSAY-PRÄZISION

Durch Analyse von sechs positiven Stuhlproben (drei *Giardia*-positiv und drei *Cryptosporidium*-positiv) und zwei negativen Stuhlproben wurde der prozentuale Intra-Assay-Variationskoeffizient (VK) bestimmt. Jede Probe wurde in zwölf Testvertiefungen getestet. Der prozentuale VK der positiven Proben lag zwischen 1,5 und 12,2 mit einem Mittelwert von 6,3. Der prozentuale VK der negativen Proben lag zwischen 3,2 und 3,5 mit einem Mittelwert von 3,4.

### INTER-ASSAY-PRÄZISION

Zur Bestimmung der Inter-Assay-Leistung wurden sechs positive Stuhlproben (drei *Giardia*-positiv und drei *Cryptosporidium*-positiv) und zwei negative Stuhlproben insgesamt fünf Mal während eines Zeitraums von fünf Tagen mit dem *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*®-Set getestet. Der prozentuale Variationskoeffizient der positiven Proben lag zwischen 0,3 und 18,1 mit einem Mittelwert von 7,4. Der prozentuale VK der negativen Proben lag zwischen 4,1 und 7,7 mit einem Mittelwert von 5,9.

## GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK® - FRANÇAIS

### UTILISATION PRÉVUE

Le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® est une analyse immuno-enzymatique pour la détection qualitative de l'antigène du kyste de *Giardia* et des oocystes de *Cryptosporidium* dans la matière fécale humaine. Il est indiqué pour déterminer l'éventuelle présence d'une infection gastro-intestinale due à la *Giardia* et/ou au *Cryptosporidium* chez les patients diarrhéiques.

Attention: la loi fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux médecins ou sur prescription médicale.

### EXPLICATION

La *Giardia* spp. est un parasite protozoaire flagellé binucléaire existant sous deux formes : un trophozoïte en forme de poire non infectieux (9 à 20 µm) que l'on trouve dans l'intestin grêle, et une forme de kyste elliptique hautement infectieuse et dont les dimensions varient de 8 à 12 µm (1). La survie de chacune de ces deux formes dans le milieu extérieur est très variable : extrêmement labile, le trophozoïte ne subsiste que quelques heures en dehors du corps tandis que la forme kyste peut survivre plusieurs jours dans un environnement externe (1). Le parasite est responsable des infections dues à la contamination des eaux ; les voyageurs sont susceptibles de contracter la lambliaose (ou giardiose) dans les régions où cette affection est endémique (2-5). La transmission se produit aussi par contact direct, en particulier par le biais de porteurs asymptomatiques et par contamination de la nourriture (6,7). Les catégories à haut risque incluent les enfants en bas âge, les patients immunodéficitaires et les personnes n'ayant jamais été exposées auparavant (8). Plus récemment, la lambliaose a été recensée parmi les maladies sexuellement transmissibles (9). La contamination par le biais des matières fécales d'origine animale - contamination de l'eau, notamment - est également une voie de transmission aux humains (4, 10, 11).

Les manifestations cliniques de la lambliaose s'étendent du porteur asymptomatique qui transmet le kyste, aux diarrhées chroniques débilantes, perte de poids et malabsorption (8, 12, 13). La méthode diagnostique la plus utilisée pour détecter la lambliaose est l'analyse microscopique. Cependant, ce procédé exige une grande expérience et la présence de kystes intacts dans les selles. Le test ELISA constitue une méthode alternative. Il s'agit d'un procédé relativement simple offrant une meilleure sensibilité par rapport aux analyses effectuées au microscope. Au microscope, les échantillons de selles sont examinés suivant différents procédés (14), les résultats obtenus dépendant de la compétence du technicien. Le taux de réussite des analyses de selles se situe entre 50 et 70% (15, 16), plusieurs échantillons étant généralement nécessaires pour établir un diagnostic. En outre, la lambliaose peut être présente même en l'absence d'organismes entiers ; elle peut donc être confondue avec la maladie de Crohn ou la colite ulcéreuse (17). Quand l'infection est présente mais qu'aucun parasite n'est détecté, les trophozoïtes peuvent être dépistés par prélèvement et analyse des fluides duodénaux ; il s'agit cependant d'une méthode invasive et onéreuse (14, 16). Sensible et spécifique, la détection de l'organisme et des antigènes par ELISA constitue une méthode diagnostique alternative (18-20) permettant d'analyser rapidement et objectivement un grand nombre d'échantillons. Par ailleurs, ce procédé requiert beaucoup moins de main-d'oeuvre que la plupart des analyses microscopiques.

On considérait autrefois que le *Cryptosporidium* spp. - parasite protozoaire des vertébrés - ne provoquait de diarrhées que chez les animaux (23). La première infection humaine a été signalée en 1976 (24). Depuis lors, le *Cryptosporidium* a été associé au syndrome diarrhéique dans la plupart des régions du monde, s'avérant fréquemment responsable de la diarrhée du voyageur (23, 25). La maladie est transmise par l'oocyste à paroi épaisse (2-6 µm de diamètre), remarquablement résistant aux désinfectants courants et à la chloration de l'eau destinée à la consommation. La transmission d'une personne à une autre est commune, en particulier chez les enfants (26). Le *Cryptosporidium* a peu, voire aucun hôte spécifique ; les animaux —tels que les rongeurs, le bétail et les animaux




de compagnie— sont de simples porteurs responsables de la transmission zoonotique à l'homme (23,27), celle-ci se produisant soit par contact direct, soit par contamination fécale des points d'eau (23,28-30). La cryptosporidie est une infection opportuniste sérieuse pour les personnes atteintes du SIDA (syndrome d'immunodéficience acquise) ; elle est d'ailleurs recensée parmi les maladies potentiellement transmissibles par voie sexuelle (28,31).

Les manifestations cliniques de la cryptosporidie sont les suivantes : diarrhées aiguës (semblables à celles que provoque le choléra), douleurs abdominales, nausées, vomissements et perte de poids. Chez les personnes en bonne santé, l'infection est généralement limitée et de courte durée. Chez les personnes atteintes du SIDA ou immunodéficientes, la cryptosporidie peut entraîner une affection prolongée, voire mortelle, suite à une forte perte de liquides. Chez ces patients, l'infection peut par ailleurs se propager au système respiratoire et au système biliaire (28).

## PRINCIPES BIOLOGIQUES

Le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® utilise des anticorps monoclonaux et polyclonaux dirigés contre les antigènes de surface cellulaire de la *Giardia* et un antigène d'ocyste *Cryptosporidium*. Les *Microplaques* fournies avec le kit sont enduites d'un anticorps monoclonal immobilisé contre l'antigène et le *Conjugué* se compose d'un anticorps polyclonal contre l'antigène. Lors de l'analyse, une quantité aliquote de selles diluées est introduite dans le micropuits. Les anticorps monoclonaux immobilisés se lient aux antigènes de la *Giardia* et du *Cryptosporidium* lorsque ceux-ci sont présents. Le *Conjugué* est ensuite ajouté et se lie au complexe antigène/anticorps. Tout matériel non lié est éliminé lors du processus de lavage. L'adjonction du Substrat entraîne une modification de la coloration suite à la formation d'un complexe enzyme-anticorps-antigène en présence de l'antigène de la *Giardia* et/ou du *Cryptosporidium* et du *Conjugué*.

## MATÉRIAUX FOURNIS

CONJ   ENZ	<b>Conjugué</b> , 7 ml (anticorps polyclonal de lapin contre l'antigène de surface cellulaire de la <i>Giardia</i> et anticorps polyclonal de lapin contre l'antigène de surface cellulaire du <i>Cryptosporidium</i> dans une solution tamponnée et protéinée contenant 0,02% de thimérosal)*.	
DIL   SPE	<b>Diluant</b> , 50 ml (solution tamponnée et protéinée contenant 0,02% de thimérosal)*. Le <i>Diluant</i> est également utilisé comme solution de contrôle Négatif (voir PROCÉDURE D'ANALYSE).	
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>   0.6N	<b>Solution d'Arrêt</b> , 7 ml (0,6 N d'acide sulfurique). Attention : éviter tout contact avec la peau. En cas de contact, rincer immédiatement à l'eau. Mot indicateur : Danger	
	H314 : Provoque de graves brûlures de la peau et des lésions oculaires P260, P264, P280, P301, P330, P331, P303, P361, P353, P363, P304, P340, P310, P321, P305, P351, P338, P501	
CONTROL   +	<b>Contrôle Positif Giardia</b> , 3,5 ml (antigène <i>Giardia</i> dans une solution tamponnée et protéinée contenant 0,02% de thimérosal)*.	
CONTROL   +	<b>Contrôle Positif Cryptosporidium</b> , 3,5 ml (matières fécales d'origine bovine inactivées à la chaleur, contenant l'antigène du <i>Cryptosporidium</i> dans une solution tamponnée et protéinée à 0,02% de thimérosal)*.	
SUBS   REAG	<b>Substrat</b> , 14 ml (solution contenant du tétraméthylbenzidine et du peroxyde).	
WASHBUF   20X	<b>Tampon de lavage à concentration 20X</b> , 50 ml (concentré à 20X contenant un tampon salin phosphaté, un détergent et 0,2% de thimérosal)*. Mot indicateur : Avertissement	
	H373 : Peut endommager les organes en cas d'exposition prolongée ou répétée	
	H411: Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. P260, P273, P314, P391, P501	

**Microplaques**, 12 bandes, chacune présentant 8 micropuits enduits d'anticorps monoclonal contre l'antigène de surface cellulaire de la *Giardia* et d'anticorps monoclonal contre l'antigène de surface cellulaire du *Cryptosporidium* (sous emballage contenant un produit dessiccant).

\*contient du mercure



2 films adhésifs

100 pipettes graduées jetables

### MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

Pulvérisateur pour le réactif de lavage

Agitateur vortex

950 ml d'eau distillée pour diluer le réactif de lavage

Réceptacle à déchets

Papier absorbant

Écouvillons

Petits tubes à essai (tubes microcentrifuges, par ex.)

Lecteur ELISA capable d'effectuer une lecture à 450 nm ou à 450/620 nm

### PRÉCAUTIONS

1. Rx Only - Sur ordonnance uniquement
2. Pour une utilisation diagnostique *in vitro*. Uniquement à usage professionnel.
3. Les réactifs des différents kits ne doivent pas être mélangés. Ne pas utiliser le kit si sa date de péremption est dépassée.
4. Les réactifs doivent être à température ambiante avant utilisation.
5. Les capsules et les embouts sont classés par couleur. Ne pas les mélanger.
6. Contrôler tous les éléments du kit afin de vérifier qu'ils ne présentent aucun signe de fuite. Examiner le kit dès réception afin de vérifier que les éléments ne sont ni glacés ni chauds au toucher en raison de conditions de transports inadéquates.
7. Lors des manipulations, éviter d'érafler le fond des micropuits, toute dégradation pouvant entraîner une lecture erronée de l'absorbance.
8. Tenir les compte-gouttes en position verticale de façon à dispenser des gouttes de taille adéquate.
9. Les micropuits non utilisés doivent être réintroduits dans leur emballage refermable contenant un produit dessiccant pour les protéger de l'humidité.
10. Le lavage doit être réalisé suivant les consignes indiquées afin d'éviter toute réaction hors essai.
11. Le *Substrat* est photosensible et ne doit pas être directement exposé à la lumière solaire ou à une source de rayons UV. Si une coloration apparaît suite à une exposition du *Substrat* à la lumière, celui-ci doit être éliminé.
12. Les meilleurs résultats sont obtenus si la procédure de test spécifiée est respectée. Les concentrations, les conditions d'incubation et les spécifications de traitement ont été optimisées de façon à rendre le test sensible et spécifique. Toute modification de la procédure spécifiée et/ou des conditions de test peut altérer la sensibilité et la spécificité du test.
13. La contamination microbienne des réactifs peut réduire l'exactitude de l'analyse. Éviter la contamination microbienne des réactifs en utilisant des pipettes stériles jetables pour extraire les aliquots des flacons à réactifs.
14. Manipuler les échantillons et micropuits utilisés comme tout facteur potentiel de transmission d'agents infectieux. S'équiper de gants jetables pendant le test.
15. Le *Tampon de lavage concentré 20X* contient du Thimérosal 0,2 % comme conservateur. Une fois diluée à une concentration normale d'utilisation, cette solution est classée comme non dangereuse. La *Solution d'arrêt* contient 0,6 N d'acide sulfurique. En cas de contact, rincer immédiatement à l'eau. Les vêtements contaminés doivent être ôtés puis lavés avant d'être réutilisés. Manipuler les réactifs selon les réglementations existantes relatives à la sécurité des laboratoires et les

bonnes pratiques de laboratoire. Les fiches de sécurité de ce produit sont disponibles à la demande. Contacter le support technique.

16. Respecter les arrêtés locaux, régionaux et nationaux relatifs aux réglementations sur l'élimination des déchets. Ne pas les jeter avec les déchets ménagers mais avec les matières dangereuses.

## DURÉE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date de péremption du kit est indiquée sur l'emballage. La date de péremption de chaque composant est indiquée sur l'étiquette figurant sur chacun d'entre eux. Le kit doit être stocké à une température comprise entre 2 et 8 °C et remis au réfrigérateur aussitôt que possible après utilisation.

## MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS

1. Les méthodes internes standard de prélèvement et de manipulation des échantillons de selles sont considérées appropriées. Il n'est donc pas nécessaire de modifier les méthodes de prélèvement normalement appliquées pour les examens microscopiques O&P. Les échantillons de selles peuvent être utilisés non conditionnés, congelés, introduits dans une solution de formol tamponnée à 10% ou dans du SAF (Sodium-Acétate-Formol).
2. Les échantillons non conditionnés doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C et analysés dans les 24 heures suivant le prélèvement. Les échantillons ne pouvant être analysés dans ce délai devront être congelés à -20 °C ou à une température inférieure.
3. Les échantillons conditionnés peuvent être entreposés à température ambiante et testés dans les 18 mois suivant le prélèvement.
4. Il n'est pas nécessaire (ni recommandé) de concentrer les échantillons de selles.
5. Veiller à ce que les échantillons soient bien mélangés (mixés) avant de réaliser l'analyse. Ce qui signifie que l'échantillon doit être complètement mélangé avant de l'introduire dans le *Diluant* et/ou dans le micropuits.
6. Toutes les dilutions doivent être effectuées avec le *Diluant*.

## PRÉPARATION DU RÉACTIF

1. Le contenu du kit doit être à température ambiante avant utilisation.
2. Préparer la *Solution de lavage* à 1X. Le *Tampon de lavage* est fourni sous forme de concentration à 20X (un précipité peut être observé). Verser 50 ml de concentré dans 950 ml d'eau distillée pour obtenir un volume total d'un litre. La *Solution de lavage* à 1X peut être entreposée à une température comprise entre 2 et 8 °C.
3. Tous les réactifs, excepté le *Tampon de lavage concentré*, sont fournis dans des flacons prêts à l'emploi. Les réactifs peuvent être dispensés directement à l'aide des compte-gouttes ; ils peuvent également être transvasés puis dispensés à l'aide de pipettes multicanaux. Après transvasement, tout surplus de réactif devra être éliminé. Ne pas réintroduire dans le flacon original. Le *Substrat* doit être maintenu dans son récipient opaque d'origine et extrait de ce récipient suivant besoin. Après extraction, le *Substrat* inutilisé ne doit pas être réintroduit dans son récipient d'origine.

## PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

1. Échantillons frais ou congelés : les échantillons congelés doivent être décongelés. Verser 400 µl de *Diluant* dans le tube microcentrifuge (un tube par échantillon), ajouter 100 µl d'échantillon dans le tube (2<sup>e</sup> marque sur la pipette graduée) puis mélanger soigneusement. Si l'échantillon ne peut pas être transféré à l'aide d'une pipette, prélever environ 0,1 gramme de matière fécale à l'aide d'un écouvillon. Cette quantité équivaut plus ou moins à la taille d'un petit pois (environ 4 mm de diamètre).
2. Échantillons conditionnés : mélanger soigneusement (mixer) le contenu du récipient avant de transférer l'échantillon. Aucune préparation ou dilution supplémentaire n'est nécessaire.

## PROCÉDURE D'ANALYSE

1. Préparer trois micropuits de contrôle qui serviront de Contrôle Positif et négatif. Verser 1 goutte (50 µl) de *Contrôle Positif Giardia* (capsule noire) dans le premier micropuits de Contrôle Positif ; verser 1 goutte (50 µl) de *Contrôle Positif Cryptosporidium* (capsule blanche) dans le second micropuits de Contrôle Positif et 2 gouttes (100 µl) de *Diluant* dans le micropuits de contrôle négatif.
2. Pour les échantillons frais ou congelés (c.-à-d. non conditionnés), les diluer comme indiqué au paragraphe PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS.
3. Transférer 100 µl de *Diluant* dans chaque micropuits de la *Microplaque*. À l'aide de pipettes en plastique, transférer 1 goutte d'échantillon (50 µl, 1<sup>e</sup> marque de la pipette graduée) dans chaque micropuits contenant déjà le *Diluant* puis tapoter légèrement pour mélanger. Fermer hermétiquement à l'aide d'un film adhésif et incubé pendant 1 heure à température ambiante.
4. Secouer le contenu hors des micropuits dans un réceptacle à déchets. Nettoyer les micropuits en projetant énergiquement la *Solution de lavage* à 1X à l'aide d'un pulvérisateur à jet continu vers le fond de chaque micropuits. Remplir les micropuits, secouer la *Solution de lavage* hors des micropuits dans un réceptacle à déchets et rabattre énergiquement la plaque sur une serviette en papier sèche. Renouveler l'opération 4 fois supplémentaires (5 lavages au total). S'il reste encore des particules de matière fécale dans les micropuits, laver la plaque jusqu'à ce qu'elle soit parfaitement propre.
5. Après lavage, éliminer complètement tout liquide résiduel pouvant rester dans les micropuits en rabattant énergiquement la plaque sur une serviette en papier sèche de façon à expulser toute trace de liquide. Éliminer les serviettes en papier et les récipients ayant contenu des échantillons de façon appropriée.
6. Verser 1 goutte (50 µl) de *Conjugué* (capsule rouge) dans chaque micropuits et tapoter légèrement pour mélanger. Fermer hermétiquement à l'aide d'un film adhésif. Laisser incubé les micropuits à température ambiante pendant 30 minutes.
7. Répéter les opérations de lavage décrites aux paragraphes 4 et 5.
8. Verser 2 gouttes (100 µl) de *Substrat* (capsule bleue) dans chaque micropuits. Tapoter légèrement pour mélanger. Laisser incubé les micropuits à température ambiante pendant 10 minutes.
9. Verser 1 goutte (50 µl) de *Solution d'Arrêt* (capsule jaune) dans chaque micropuits. Tapoter légèrement pour mélanger et attendre 2 minutes avant d'effectuer la lecture. Lors de l'adjonction de la *Solution d'Arrêt*, la couleur bleue vire au jaune. Cette modification peut être quantifiée en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde de 450 nanomètres sur un lecteur de microplaques ELISA. Le zéro d'absorbance de l'instrument doit être ajusté à l'air. Essuyer le dessous de chaque micropuits pour enlever l'humidité avant de mesurer l'absorbance. Pour les lecteurs à double longueur d'onde, ajuster le zéro à l'air à 620 nm et effectuer la lecture à 450 nm. Consigner également les observations visuelles. Effectuer la lecture dans les dix minutes suivant l'adjonction de la *Solution d'Arrêt*.

## CONTRÔLE DE QUALITÉ

1. Effectuer un *Contrôle Positif Giardia*, un *Contrôle Positif Cryptosporidium* et un contrôle négatif pour chaque série d'échantillons d'analyses.
2. Chaque micropuits de Contrôle Positif doit présenter une couleur jaune parfaitement perceptible et doit produire une absorbance de 0,500 ou plus. Si un micropuits donne une lecture positive sans présenter une couleur parfaitement perceptible, le repositionner, essuyer le dessous du micropuits pour enlever l'humidité et effectuer une nouvelle lecture.
3. Les micropuits de contrôle négatifs ne doivent présenter aucune coloration ou, au plus, une légère coloration jaune inférieure à 0,150 d'absorbance mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques réglé à 450 nm de densité optique, ou inférieure à 0,090 d'absorbance mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques réglé à 450/620 nm de densité optique.



- Les résultats des tests ne peuvent pas être considérés valides si les caractéristiques de performance des contrôles positifs et négatifs ne sont pas satisfaites. Si des résultats différents sont observés, contacter nos Services Techniques.
- Le résultat des tests et les valeurs d'absorbance des contrôles doivent être consignés et archivés conformément aux procédures internes de l'établissement pour toute référence ultérieure.

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Absorbance		Couleur visuelle	Interprétation
450 nm	450/620 nm		
< 0,150	< 0,090	Jaune clair à légèrement jaune	Négatif – L'antigène n'est pas détecté En dessous des limites de détection de l'analyse.
≥ 0,150	≥ 0,090	Jaune pâle à jaune foncé	Positif – L'échantillon contient l'antigène de la <i>Giardia</i> et/ou l'antigène du <i>Cryptosporidium</i> .

### Interprétation visuelle

- Négatif :** échantillon incolore ou présentant une intensité de couleur semblable à celle du micropuits de contrôle négatif. L'antigène n'est pas détecté. En dessous des limites de détection de l'analyse.
- Positif :** échantillon présentant une coloration manifestement plus jaune que le micropuits de contrôle négatif. L'échantillon contient l'antigène de la *Giardia* et/ou l'antigène du *Cryptosporidium*.

REMARQUE : Tout comme certains micropuits, le contrôle négatif peut présenter une légère coloration jaune. Le micropuits contenant l'échantillon doit présenter une coloration manifestement plus jaune que le micropuits de contrôle négatif pour que le résultat soit considéré positif.

### Interprétation spectrophotométrique

- Permet de déterminer la valeur d'absorbance du contrôle négatif.  
Le résultat du contrôle négatif doit être inférieur à 0,150 DO<sub>450</sub> ou < 0,090 DO<sub>450/620</sub>.  
Si ce n'est pas le cas, le test ne peut pas être considéré valide et doit être répété en veillant à effectuer correctement la procédure de lavage.
- Le résultat du *Contrôle Positif* doit être supérieur ou égal à 0,500.
- Résultats des tests  
**Négatif :** < 0,150 (absorbance à 450 nm) ou < 0,090 (absorbance à 450/620 nm).  
L'antigène n'est pas détecté. En dessous des limites de détection de l'analyse.  
**Positif :** ≥ 0,150 (absorbance à 450 nm) ou ≥ 0,090 (absorbance à 450/620 nm).  
L'échantillon contient l'antigène de la *Giardia* et/ou l'antigène du *Cryptosporidium*.

## LIMITES DE LA PROCÉDURE

- Le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® permet de détecter la présence de l'antigène de la *Giardia* et du *Cryptosporidium* dans des échantillons de selles.
- Les résultats des tests doivent être interprétés par un médecin en considérant d'autres résultats de laboratoire ainsi que l'historique clinique du patient.
- Le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® ne permet pas de tester des échantillons de selles concentrés au risque d'obtenir des résultats erronés.
- La valeur prédictive d'un résultat positif diminue lorsque l'analyse est effectuée sur une population à faible prévalence.
- Le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® permet un dépistage qualitatif de l'antigène de la *Giardia* et du *Cryptosporidium* dans des échantillons de selles. L'importance de la valeur d'absorbance n'ayant pas de corrélation avec la charge de l'organisme, la détermination quantitative de l'organisme n'a pas été évaluée.

## VALEURS ATTENDUES

Les individus en bonne santé ne sont normalement pas infectés par la *Giardia* ou le *Cryptosporidium* et doivent obtenir un résultat négatif au test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>. Un résultat positif au test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> indique que l'individu sécrète une quantité détectable d'antigène de la *Giardia* ou du *Cryptosporidium*. L'incidence des infections dues à la *Giardia* et au *Cryptosporidium* varie de façon significative en fonction des populations et des zones géographiques. Les enfants fréquentant un environnement de garde présentent des taux d'infection à la *Giardia* plus élevés que la population normale (21). Les homosexuels hommes présentent également des taux d'infection plus élevés (22). En général, d'après des études effectuées en laboratoire, l'incidence de la cryptosporidie dans les pays développés est comprise entre 1 et 2%, cette incidence étant plus élevée chez les enfants (32).

## EFFICACITÉ DU TEST

La capacité du test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> à détecter des antigènes de la *Giardia* et du *Cryptosporidium* dans des échantillons de selles conditionnés a été évaluée par un laboratoire indépendant. Sur les 217 échantillons analysés par microscopie, 74 étaient *Giardia*-positifs et 44 étaient *Cryptosporidium*-positifs. Trois échantillons se sont avérés à la fois *Giardia*-positifs et *Cryptosporidium*-positifs. Chaque échantillon a ensuite été analysé à l'aide du test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>. Les résultats obtenus sont résumés aux tableaux 1, 2 et 3.

**Tableau 1. Comparaison entre le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> et l'analyse microscopique pour le dépistage de la *Giardia* et/ou du *Cryptosporidium*.**

Échantillons totaux (n = 217)		Analyse microscopique	
		Positif	Négatif
<i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK</i> <sup>®</sup>	Positif	121	0
	Négatif	3	93

		95% CI
Sensibilité	97,6%	92,6% - 99,4%
Spécificité	100%	95,1% - 100%
Valeur prédictive positive	100%	96,2% - 100%
Valeur prédictive négative	96,9%	90,5% - 99,2%
Corrélation	98,6%	98,2% - 98,9%

**Tableau 2. Comparaison entre le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> et l'analyse microscopique pour le dépistage de la *Giardia* uniquement. Tous les échantillons de cet ensemble de données se sont avérés négatifs pour le *Cryptosporidium* après analyse microscopique.**

Échantillons totaux (n = 167)		Microscopie - <i>Giardia</i>	
		Positif	Négatif
<i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK</i> <sup>®</sup>	Positif	74	0
	Négatif	0	93

		95% CI
Sensibilité	100%	93,9% - 100%
Spécificité	100%	95,1% - 100%
Valeur prédictive positive	100%	93,9% - 100%
Valeur prédictive négative	100%	95,1% - 100%
Corrélation	100%	100% - 100%

**Tableau 3. Comparaison entre le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> et l'analyse microscopique pour le dépistage du *Cryptosporidium* uniquement. Tous les échantillons de cet ensemble de données se sont avérés négatifs pour le *Giardia* après analyse microscopique.**

Échantillons totaux (n = 140)		Microscopie - <i>Cryptosporidium</i>	
		Positif	Négatif
<i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK</i> <sup>®</sup>	Positif	44	0
	Négatif	3	93

		95% CI
Sensibilité	93,6%	81,4% - 98,3%
Spécificité	100%	95,1% - 100%
Valeur prédictive positive	100%	90,0% - 100%
Valeur prédictive négative	96,9%	90,5% - 99,2%
Corrélation	97,9%	97,1% - 98,4%

### RÉACTIVITÉ CROISÉE

Le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> a été évalué par un laboratoire indépendant à l'aide d'échantillons de selles avérés positifs pour une variété de microbes pathogènes intestinaux. Aucune réactivité croisée n'a été observée avec des échantillons de selles contenant un ou plusieurs des pathogènes énumérés ci-après. Le nombre d'échantillons testés pour chaque organisme est indiqué entre parenthèses.

<i>Ascaris lumbricoides</i> eggs (26)	<i>Entamoeba coli</i> (17)
<i>Blastocystis hominis</i> (31)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (4)
<i>Chilomastix mesnili</i> (2)	<i>Enterobius vermicularis</i> eggs (6)
<i>Cyclospora cayatanensis</i> (1)	<i>Hymenolepis nana</i> eggs (4)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (10)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (4)
<i>Diphyllobothrium latum</i> eggs (1)	<i>Strongyloides stercoralis</i> larvae (2)
<i>Endolimax nana</i> (36)	<i>Taenia</i> spp. eggs (2)
<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (9)	<i>Trichuris trichiura</i> eggs (20)

La réactivité croisée du test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup> a également été évaluée avec les souches bactériennes et virales énumérées ci-après. Aucune de ces souches n'a provoqué de réactivité croisée avec le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*<sup>®</sup>.

<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC (enterotoxig)
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	<i>Escherichia coli</i> EPEC (enteropathogenic)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC (enteroinvasive)

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	
<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>	
<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Campylobacter coli</i>	
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Clostridium difficile</i>	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	
<i>Clostridium bif fermentans</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>	
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus cereus</i>	
Adenovirus type 1	Adenovirus type 2	Adenovirus type 3
Adenovirus type 5	Adenovirus type 40	Adenovirus type 41
Human coronavirus	Coxsackievirus B2	Coxsackievirus B3
Coxsackievirus B4	Coxsackievirus B5	Echovirus 9
Echovirus 11	Echovirus 18	Echovirus 22
Echovirus 33	Enterovirus type 68	Enterovirus type 69
Enterovirus type 70	Enterovirus type 71	

### INTERFÉRENCES ANALYTIQUES

Les substances suivantes n'ont pas modifié le résultat positif ou négatif des tests aux concentrations indiquées ci-après : mucine (3,5% p/v), sang humain (40% p/v), Imodium® (5% p/v), Kaopectate® (5 mg/ml), Pepto-Bismol® (5% p/v), graisses fécales (acide stéarique – 40% p/v), Métronidazole (0,25% p/v), Vancomycin (0,25% p/v).

### COMPATIBILITÉ DES ÉCHANTILLONS CONDITIONNÉS

La compatibilité des échantillons de selles conditionnés avec le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® a été évaluée en interne. Aucune diminution de la sensibilité ou de la spécificité du test n'a été observée avec des échantillons conservés dans une solution de formol tamponnée à 10% ou dans du SAF (Sodium-Acétate-Formol) par rapport à des échantillons frais et congelés.

### PRÉCISION – INTRA-ANALYSE

Le % coefficient de variation (CV) intra-analyse a été déterminé en analysant six échantillons de selles positifs (trois *Giardia*-positifs et trois *Cryptosporidium*-positifs) et deux échantillons de selles négatifs. Chaque échantillon a été analysé dans douze micropuits. Le pourcentage du CV pondéré des échantillons positifs se situe entre 1,5 et 12,2 avec un pourcentage moyen de 6,3. Le pourcentage du CV pondéré des échantillons négatifs se situe entre 3,2 et 3,5 avec un pourcentage moyen de 3,4.

### PRÉCISION – INTER-ANALYSE

Les performances inter-analyse du kit *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK*® ont été déterminées à l'aide de six échantillons de selles positifs (trois *Giardia*-positifs et trois *Cryptosporidium*-positifs) et de deux échantillons de selles négatifs analysés cinq fois au total sur une période de cinq jours. Le pourcentage du coefficient de variation (CV) pondéré des échantillons positifs se situe entre 0,3 et 18,1 avec un pourcentage moyen de 7,4. Le pourcentage du CV pondéré des échantillons négatifs se situe entre 4,1 et 7,7 avec un pourcentage moyen de 5,9.

FOR INFORMATIONAL USE ONLY

## REFERENCES

1. Erlandsen, L. S. and E. A. Meyer (Ed.). 1984. *Giardia* and giardiasis: biology, pathogenesis and epidemiology. Plenum Press, New York.
2. World Health Organization Scientific Working Group. 1980. Parasite-related diarrhoeas. Bull W.H.O. 58:819-830.
3. Petersen, H. 1972. Giardiasis (lambliasis). Scand. J. Gastroenterol. 7 (Suppl 14):1-44.
4. Craun, G. F. 1979. Waterborne outbreaks of giardiasis. In Jakubowski, W., J. Hoff (Ed.), Waterborne transmission of giardiasis. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., pp. 127-149.
5. Brodsky, R. E., H. C. Spencer, and M. G. Schultz. 1974. Giardiasis in American travelers to the Soviet Union. J. Infect. Dis. 130:319-23.
6. White, K. E., C. W. Hedberg, L. M. Edmons, D. B. W. Jones, M. T. Osterholm, and K. L. MacDonald. 1989. An outbreak of giardiasis in a nursing home with evidence for multiple modes of transmission. J. Infect. Dis. 160:298-304.
7. Pickering, L. K., W. E. Woodward, H. L. DuPont, and P. Sullivan. 1984. Occurrence of *Giardia lamblia* in day care centres. J. Ped. 104:522-526.
8. Stevens, D. P., and A. A. Mahmoud. 1980. Giardiasis: the rediscovery of an ancient pathogen. Curr. Clin. Top. in Infect. Dis. 1:195-207.
9. Phillips, S. C., D. Mildvan, and D. C. Williams. 1981. Sexual transmission of enteric protozoa and helminths in a venereal disease clinic population. New Eng. J. Med. 305:603-606.
10. Friend, D. S. 1966. The fine structure of *Giardia muris*. J. Cell Biol. 29:317-332.
11. Faubent, G. M. 1988. Evidence that giardiasis is a zoonosis. Parasitol. Today 4:66-89.
12. Raizman, R. E. 1976. Giardiasis: an overview for the clinician. Digest. Dis. 21:70-74.
13. Kay, R., G. L. Barnes, and R. R. W. Townley. 1977. *Giardia lamblia* infestation in 154 children. Aust. Paed. J. 13:98-104.
14. Sun, T. 1980. The diagnosis of giardiasis. Am. J. Surg. Path. 4:265-271.
15. Burke, J. A. 1977. The clinical and laboratory diagnosis of giardiasis. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. 7:373-391.
16. Kamath, K. R., and R. Murugasu. 1974. A comparative study of four methods for detecting *Giardia lamblia* in children with diarrhoeal disease and malabsorption. Gastroenterology 66:16-21.
17. Allison, M. C., E. L. Green, D. N. Bhattacharya, A. Smith, and R. E. Pounder. 1988. A microscopic and immunodiagnostic search for giardiasis in patients with gastrointestinal disorders. Scan. J. Gastroenterol. 23:209-212.
18. Nash, T. E., D. A. Herrington, and M. M. Levine. 1987. Usefulness of an enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Giardia* antigen in faeces. J. Clin. Microbiol. 27:1169-1171.
19. Janoff, E. N., J. C. Croft, L. K. Pickering, T. Novotny, M. J. Blaser, C. V. Knisley, and L. B. Reller. 1989. Diagnosis of *Giardia lamblia* infections by detection of parasite specific antigens. J. Clin. Microbiol. 27:431-435.
20. Stibbs, H. 1989. Monoclonal antibody-based enzyme immunoassay for *Giardia lamblia* antigen in human stool. J. Clin. Microbiol. 27:2582-2588.
21. Novotny, T. E., R. S. Hopkins, P. Shillam, and E. N. Janoff. 1990. Prevalence of *Giardia lamblia* and risk factors for infection among children attending day-care facilities in Denver. Public Health Rep. 105(1): 72-5.
22. William, D.C. 1981. Enteric Diseases. Cutis. 27(3):278-81, 283-5.
23. Fayer, R. and L. P. Ungar. 1986. *Cryptosporidium* spp and Cryptosporidiosis. Micro. Rev. 50:458-483.
24. Meisel, J. L., D. R. Perera, C. Meligro, and C. E. Rubin. 1976. Overwhelming watery diarrhea associated with *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. Gastroenterology 70:1156-60.
25. Sterling, C. R. 1986. *Cryptosporidium* as a causative agent of travellers' diarrhoea. J. Infect. Dis. 153:380-1.
26. Alpert, G., L. M. Bell, C. E. Kirkpatrick, L. D. Budnick, J. M. Campos, H. M. Friedman, and S. A. Plotkin. 1984. Cryptosporidiosis in a day-care centre. New Eng. J. Med. 311:860-1.
27. Pitlik, S. D., V. Fainstein, D. Garza, R. Bolivar, A. Rios, R. L. Hopper, and P. A. Mansell. 1983. Human cryptosporidiosis: spectrum of disease (1983). Arch. Intern. Med. 143:2269-74.
28. Current, W. L. 1989. Cryptosporidiosis. In: New Strategies in Parasitology.(Ed. K. P. W. J. McAdam) Churchill Livingstone pp 257-73.

29. Hayes, E. B., T. D. Matter, T. R. O'Brien, T. W. McKinley, G. S. Logsdon et al. 1989. Large community outbreak of Cryptosporidiosis due to contamination of a filtered public water supply. *New Eng. J. Med.* 320:1372-76.
30. Badenoch, J. 1990. *Cryptosporidium* in water supplies. London H.M.S.O. pp 37-45.
31. Angus, K. W. 1990. Cryptosporidiosis and AIDS. *Clinical Gastroenterol.* 4:425-41.
32. Fayer, R. 1997. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, New York.

FOR INFORMATIONAL USE ONLY

**Technical Support**

Further information can be obtained from contacting TECHLAB® Technical Support::

US +1 800 TECHLAB  
Phone (540) 953-1664  
Fax (540) 953-1665  
Email [ts@techlab.com](mailto:ts@techlab.com)

FOR INFORMATIONAL USE ONLY

© 2023 TECHLAB, Inc. All rights reserved.

GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM CHEK, the TECHLAB Logo, and TECHLAB are trademarks of TECHLAB, Inc.

All other trademarks referenced are trademarks of their respective owners.