

CRYPTOSPORIDIUM/GIARDIA Assay Procedure / Procedura del test / Procédure résumée / Procedimiento del ensayo / Zusammenfassung der Verfahrensweise

1. Add 2 drops of Sample Treatment Buffer to tube.

Aggiungere due gocce di tampone per il trattamento del campione alla provetta.

Déposer 2 gouttes de Tampon de Traitement des Echantillons dans le tube.

Añada dos (2) gotas de Buffer para Tratar la Muestra al tubo.

Geben Sie 2 Tropfen des Proben-Aufbereitungspuffers in das Röhrchen.



4. Add 2 drops of Conjugate B to tube. Mix.

Aggiungere due gocce di coniugato B alla provetta. Miscelare.

Ajouter 2 gouttes de Conjugué B dans le tube.

Añada dos (2) gotas del Conjugado B al tubo y mezcle.

Geben Sie 2 Tropfen des Konjugat B in das Röhrchen. Mischen.



2. Add 60 µL patient specimen to tube using transfer pipet. Mix.

Con la pipetta di trasferimento aggiungere 60 µL di campione alla provetta. Miscelare.

Ajouter 60 µL d'échantillon du patient dans le tube à l'aide de la pipette de transfert. Mélanger.

Añada 60 µL de la muestra del paciente al tubo utilizando la pipeta de transferencia. Mezcle.

60 µL der Patientenprobe mit einer Transferpipette in das Röhrchen geben. Mischen.



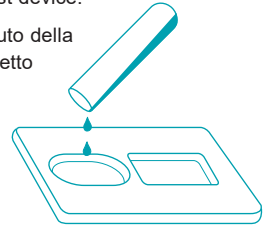
5. Pour contents of tube into sample well of test device.

Versare il contenuto della provetta nel pozzetto della card.

Verser le contenu du tube dans le Puits Echantillon de la carte de test.

Vacíe los contenidos del tubo dentro del pozo para muestra localizado en el dispositivo de prueba.

Geben Sie den Inhalt des Röhrchens in die Probenmulde der Testvorrichtung.



3. Add 2 drops of Conjugate A to tube.

Aggiungere due gocce di coniugato A alla provetta.

Ajouter 2 gouttes de Conjugué A dans le tube.

Añada dos (2) gotas del Conjugado A al tubo.

Geben Sie 2 Tropfen des Konjugat A in das Röhrchen.



6. Visually read results at 10 min. Results are invalid after 15 minutes.

Leggere visivamente i risultati dopo 10 minuti. I risultati non sono più validi dopo 15 minuti.

Lire visuellement les résultats après 10 minutes. Les résultats ne sont plus valides après 15 minutes.

Interprete visualmente los resultados a los 10 minutos. Después de 15 minutos los resultados no se consideran válidos.

Die Ergebnisse nach 10 Minuten ablesen. Nach 15 Minuten sind die Ergebnisse ungültig.



immunocard STAT!®

Crypto/Giardia Rapid Assay

REF 750830

IVD Rx Only

For the Qualitative Detection of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* Specific Antigens

CLIA Complexity: Moderate

CDC Analyte ID Code: 2222 *Giardia lamblia*; 1109 *Cryptosporidium*

CDC Test System ID Code: 08172

INTENDED USE

The **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** test is a rapid immunoassay for the qualitative detection of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* specific antigens in aqueous extracts of human fecal specimens. It is intended for in vitro diagnostic use as an aid in the detection of suspected *Cryptosporidium* or *Giardia* infections by professional laboratories.

SUMMARY AND EXPLANATION

Cryptosporidium and *Giardia* are recognized as two of the most frequent causes of parasitic intestinal disease. Both organisms are found throughout the world. Transmission is usually through the ingestion of contaminated food or water.

Giardiasis in humans is caused by the protozoan parasite *Giardia lamblia* (also known as *Giardia intestinalis*). The acute disease is characterized by watery diarrhea, nausea, abdominal cramps, bloating, weight loss and malabsorption lasting for several weeks. Chronic or asymptomatic infection can also occur.^{1,2}

Cryptosporidiosis in humans is caused by the coccidian parasite *Cryptosporidium parvum*. Acute symptoms include watery diarrhea, abdominal cramps, loss of appetite, low grade fever, nausea and vomiting lasting for several days to over a month. Severe, persistent infections can occur in immunocompromised patients.¹ Infection may also be asymptomatic. The parasite has been implicated in several major waterborne outbreaks in the United States.³

Diagnosis of *Cryptosporidium* and *Giardia* infection has traditionally been done by microscopic examination of stools. More recently, the detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* antigens in stool specimens using enzyme immunoassays has become an accepted approach to diagnosis.⁴⁻⁶ The **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** assay detects similar antigens using a non-enzymatic rapid immunoassay format.

PRINCIPLE OF THE PROCEDURE

The **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** test is a qualitative immunochromatographic assay that simultaneously detects and distinguishes between *Cryptosporidium* and *Giardia* antigens in aqueous extracts of patient stool specimens. The specimen, collected in a sample transport or preservative medium, is added to a tube containing a treatment buffer. A biotinylated anti-*Giardia* capture antibody reagent is then added, followed by a pooled suspension of colloidal dye labeled monoclonal antibodies to *Giardia* and *Cryptosporidium*. The sample is then mixed and poured into the test device that contains a capture reagent (an avidin derivative) for *Giardia*, a capture antibody for *Cryptosporidium*, and a control antibody that binds to excess colloidal dye conjugate. If *Giardia* antigen is present in the sample, a grey-black band will develop at the GIAR position in the device window. If *Cryptosporidium* antigen is present, a grey-black band will appear at the CRYPT position. The appearance of a black band at the CONT position is required for the test result to be valid. It indicates that the colloidal dye conjugate is intact and that proper capillary flow has occurred.

KIT COMPONENTS AND REAGENTS

Foil pouched *Crypto/Giardia* test devices consisting of: a) a membrane coated with an avidin derivative, mouse anti-*Cryptosporidium* and goat anti-mouse IgG, b) pad materials, desiccant and a plastic housing. (30 per test kit)

(2.8 mL) **Sample Treatment Buffer:** Buffer solution with detergent. **WARNING:** contains 0.1% azide.

(1.8 mL) **Conjugate Reagent A:** Biotinylated rabbit anti-*Giardia* in diluent buffer with carrier protein and detergent. **WARNING:** contains < 0.1% azide.

(1.8 mL) **Conjugate Reagent B:** Colloidal dye labeled monoclonal antibodies to *Crypto/Giardia* in diluent buffer with carrier protein and detergent. **WARNING:** contains < 0.1% azide.

MATERIALS PROVIDED

Each **ImmunoCard STAT!** *Crypto/Giardia* kit contains materials for 30 tests:

Pouched test devices (30)
Conjugate Reagent A (1.8 mL)
Specimen Dilution Tubes (30)
Procedure Card

Sample Treatment Buffer (2.8 mL)
Conjugate Reagent B (1.8 mL)
Specimen Transfer Pipette (30)
Package Insert

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Specimen collection and transport devices. SAF (900212), 10% formalin (900412), C&S (900612), Cary-Blair, MIF.

Clock or timer.

PROCEDURES NOTES

1. Allow kit components and specimens to equilibrate to room temperature before use. Mix liquid reagents by inverting several times before use. Return kit to the refrigerator **promptly after each use**.
2. Do not unpouch the test devices until ready for use.
3. Several tests may be run at the same time. Use separate dilution tubes and pipettes for each specimen.
4. To prevent possible contamination, avoid touching the dispensing tip of the Sample Treatment Buffer, Conjugate Reagent A and Conjugate Reagent B dropper bottles to the dilution tubes, pipettes, test devices or anything that has come into direct contact with patient specimens.
5. To minimize reagent waste and better control the size of drops dispensed from the reagent bottles, the following steps are suggested:
 - Store reagent bottles in upright position.
 - After removing the cap, thoroughly wipe tip with a laboratory wipe making sure all liquid is removed.
 - Hold bottles in a near vertical position for dispensing. If running multiple samples, allow air to enter the bottle before dispensing drops for the next test.
 - If liquid is observed on the tip at any time, wipe clean with a lab wipe prior to dispensing drops.
 - Do not vigorously shake or vortex reagents.
6. Do not concentrate patient specimens. When sampling, use the liquid portion of the specimen. It is recommended that particulates be allowed to settle so that the sample can be more easily pipetted.
7. All fresh or unpreserved specimens, including liquid samples, must be diluted approximately 1:4 in one of the acceptable transport media prior to use with this assay (see SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING section).
8. The sequence of reagent additions to the sample tube allows the user to visually monitor the procedure: Sample Treatment Buffer is added to an empty tube; the stool specimen is visually observable; Conjugate Reagent A has a red dye incorporated in it; and Conjugate Reagent B is black in color.

Test Procedure

1. Remove the test device from the pouch and place on a flat surface; place a Specimen Dilution Tube into the kit workstation holder or into a suitable test tube rack.
2. Add two drops of Sample Treatment Buffer to the Specimen Dilution Tube.
3. Use the Specimen Transfer Pipette to aspirate the aqueous patient stool specimen: squeeze the bulb of the pipette, insert the open end into the sample and release the pressure on the bulb while holding the pipette in the sample. Draw sample to the 60 µL calibration line. Transfer the contents of the pipette barrel into the Specimen Dilution Tube.

Note: All fresh or unpreserved specimens, including liquid samples, must be diluted approximately 1:4 in one of the acceptable transport media prior to use with this assay (see SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING section). If transport media is not available, distilled or deionized water may be used.

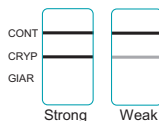
4. Mix/Invert Conjugate Reagent A. Add two drops of Conjugate Reagent A to the tube.
5. Mix/Invert Conjugate Reagent B. Add two drops of Conjugate Reagent B to the tube.
6. Mix the sample by manual swirling or by vortexing. Pour the entire contents of the tube into the sample well of the test device.
7. Visually read the test results at 10 min. Results are invalid after **15 minutes**.

INTERPRETATION OF RESULTS

Note: Visible test lines in any shade of grey or black only should be read as positive. Test lines in shades of yellow or brown should not be read as positive, but considered an invalid result.

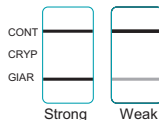
Positive for *Cryptosporidium*

The presence of grey-black bands at the CRYP and the CONT positions indicates that *Cryptosporidium* antigen has been detected. Visible test lines, in shades of grey or black only, should be read as positive. The intensity of the grey-black bands can vary from faint to strong. There is no direct correlation between the intensity of the test line with the severity of the infection.



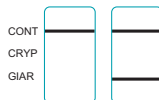
Positive for *Giardia*

The presence of grey-black bands at the GIAR and the CONT positions indicates that *Giardia* antigen has been detected. Visible test lines, in shades of grey or black only, should be read as positive. The intensity of the grey-black bands can vary from faint to strong. There is no direct correlation between the intensity of the test line with the severity of the infection.



Negative for *Cryptosporidium*

No band is visible at the CRYP position and a visible grey-black band present at the CONT position indicates that *Cryptosporidium* antigen is absent or is below detectable levels. The GIAR position can have either a visible grey-black band or no grey-black band.



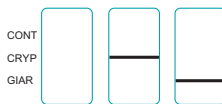
Negative for *Giardia*

No band is visible at the GIAR position and a visible grey-black band present at the CONT position indicates that *Giardia* antigen is absent or is below detectable levels. The CRYP position can have either a visible grey-black band or no grey-black band.



Invalid Results

If no band appears at the CONT position or incomplete or beaded bands appear at the CRYP or GIAR positions, the result is considered invalid. In situations where adequate flow does not occur due to excessive particulate matter in the specimen, the sample can be diluted two-fold in deionized water or in the same transport medium as it was originally collected and re-run. The test should be repeated using another device. **Test lines in colors other than grey or black should be considered invalid.** Repeat testing using an alternative method or different sample. If an alternative method is used, verify the preservative and the age of the sample is appropriate (refer to Specimen Collection and Handling).



LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. As with all diagnostic procedures, the results obtained with the **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** test should be used in conjunction with other clinical information available to the physician.
2. Negative results can occur in samples containing levels of antigen below the lower limits of detection of the assay. Multiple specimens collected over several days can be tested for patients suspected of being positive for *Giardia* or *Cryptosporidium*.
3. The test is designed for use with stool samples collected in an acceptable transport media. The use of colonic washes, aspirates or other diluted sample types has not been established and could affect the performance of the assay. Stool samples contaminated by products with an oily or particulate base (e.g., Barium, mineral oil, etc.) could interfere with the test and are not recommended.

EXPECTED VALUES

The prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* is variable among different populations and geographic areas. *Giardia* incidence in developed countries is approximately 2-5%; *Cryptosporidium* incidence in Europe and North America is about 1-3%.³ Higher prevalence rates may be present in children and in the immunosuppressed.¹⁻³

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity and Specificity

A multi-site clinical evaluation of the **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** test was performed both prospectively and retrospectively. Results from the *Cryptosporidium* and *Giardia* assay were compared with microscopic ova and parasite examination.

In the retrospective study, a panel of previously-characterized formalin preserved patient specimens was used. The assay was compared with microscopic examination results. Microscopic examination included standard ova and parasite staining for *Giardia* and other parasites, modified acid-fast staining for *Cryptosporidium* and if discrepancies were encountered, specific immunofluorescent staining for *Crypto/Giardia*.

Cryptosporidium results:

		Results ImmunoCard STAT! <i>Cryptosporidium</i>	
		+	-
Microscopic exam for <i>Cryptosporidium</i>	+	36	1
	-	0	105

Sensitivity: $36/37 = 97.3\%$ (95% confidence interval 85.8 – 100%)

Specificity: $105/105 = 100\%$ (95% confidence interval 96.6 – 100%)

The one discrepant was verified as *Cryptosporidium* positive by immunofluorescence and probably contained a level of antigen below the limit of detection of the assay.

Cryptosporidium results:

		Results ImmunoCard STAT! <i>Cryptosporidium</i>	
		+	-
Rapid EIA for <i>Cryptosporidium</i>	+	36	0
	-	0	106

Relative* agreement between the assay and rapid *Cryptosporidium* EIA: $142/142 = 100\%$

*Note: Please be advised, “relative” refers to the comparison of this assay’s results to that of a similar assay. There was not an attempt to correlate the assay’s results with disease presence or absence. No judgement can be made on the comparison assay’s accuracy to predict disease.

Giardia results:

		Results ImmunoCard STAT! <i>Giardia</i>	
		+	-
Microscopic exam for <i>Giardia</i>	+	33	0
	-	0	109

Sensitivity: $33/33 = 100\%$ (95% confidence interval 89.4 – 100%)

Specificity: $109/109 = 100\%$ (95% confidence interval 96.7 – 100%)

Giardia results:

		Results ImmunoCard STAT! <i>Giardia</i>	
		+	-
Rapid EIA for <i>Giardia</i>	+	29	0
	-	4	109

The four discrepant specimens were positive for *Giardia* by microscopy.

Relative* agreement between the assay and rapid *Giardia* EIA: $138/142 = 97.2\%$.

*Note: Please be advised, “relative” refers to the comparison of this assay’s results to that of a similar assay. There was not an attempt to correlate the assay’s results with disease presence or absence. No judgement can be made on the comparison assay’s accuracy to predict disease. The prospective study was conducted on specimens characterized at three different geographically separated sites in the United States. A total of 502 specimens were tested using the *Cryptosporidium* and *Giardia* rapid test. Results were compared with microscopic examinations for ova and parasites combined with modified acid-fast staining for *Cryptosporidium*.

Cryptosporidium results:

		Results	
		ImmunoCard STAT! <i>Cryptosporidium</i>	
		+	-
Microscopic exam for <i>Cryptosporidium</i>	+	73	0
	-	2	427

Sensitivity: $73/73 = 100\%$ (95% confidence interval 95.1 – 100%)

Specificity: $427/429 = 99.5\%$ (95% confidence interval 98.3 – 99.9%)

There were two putative *Cryptosporidium* false positives from the above data. These samples came from two patients for which *Cryptosporidium* could not be documented by a repeat of the microscopic examinations.

Giardia results:

		Results	
		ImmunoCard STAT! <i>Giardia</i>	
		+	-
Microscopic exam for <i>Giardia</i>	+	50	0
	-	4	448

Sensitivity: $50/50 = 100\%$ (95% confidence interval 92.9 – 100%)

Specificity: $448/452 = 99.1\%$ (95% confidence interval 97.8 – 99.8%)

Four putative false positives were encountered with the ImmunoCard STAT! *Crypto/Giardia*.

Discrepant testing showed all four samples to be from patients who were *Giardia* positive by microscopy on a different specimen.

Assay Reproducibility

A panel of 15 samples consisting of five replicates of a *Giardia* low level positive sample, five replicates of a *Cryptosporidium* low level positive sample and five replicates of a negative sample were run on five separate occasions by personnel at two diagnostic parasitology laboratories. Intra-assay reproducibility was demonstrated by 100% agreement (0% CV) among all of the replicate samples within each run. Inter-assay reproducibility was demonstrated by 100% agreement in the results among all of the ten separate occasions that the test panel was run.

Cross-reactivity

The *Cryptosporidium* and *Giardia* assay was run on stool specimens documented to be positive for other parasites by microscopy.

The *Giardia*-specific part of the assay showed no cross-reactivity to the following organisms:

<i>Ascaris lumbricoides</i> (1)	<i>Entamoeba coli</i> (14)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (13)
<i>Blastocystis hominis</i> (58)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (12)	<i>Microsporidia</i> (1)
<i>Chilomastix mesnili</i> (5)	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (14)	<i>Strongyloides stercoralis</i> (2)
<i>Cryptosporidium parvum</i> (121)	<i>Enterobius vermicularis</i> (1)	<i>Taenia sp.</i> (1)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (1)	<i>Enteromonas hominis</i> (2)	<i>Trichomonas hominis</i> (1)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (14)	Hookworm (1)	
<i>Endolimax nana</i> (28)	<i>Hymenolepis nana</i> (3)	

The numbers in parentheses represent the number of samples tested for each organism.

The *Cryptosporidium*-specific part of the assay showed no cross-reactivity to the following organisms:

<i>Ascaris lumbricoides</i> (1)	<i>Entamoeba coli</i> (21)	<i>Hymenolepis nana</i> (4)
<i>Blastocystis hominis</i> (92)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (20)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (12)
<i>Chilomastix mesnili</i> (6)	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (19)	<i>Microsporidia</i> (1)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (1)	<i>Enteromonas hominis</i> (2)	<i>Strongyloides stercoralis</i> (2)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (16)	<i>Giardia lamblia</i> (132)	<i>Taenia sp.</i> (2)
<i>Endolimax nana</i> (48)	Hookworm (1)	<i>Trichomonas hominis</i> (1)

The numbers in parentheses represent the number of samples tested for each organism.

immunocard STAT!®

Crypto/Giardia Rapid Assay

REF 750830

IVD Rx Only

Test rapido qualitativo per la ricerca di antigeni specifici di *Cryptosporidium* e *Giardia*

FINALITÀ D'USO

ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia è un test immunologico rapido che consente la ricerca qualitativa degli antigeni specifici di *Cryptosporidium* e *Giardia* in estratti acquosi di campioni fecali umani. Il kit è per uso diagnostico in vitro. I risultati di tale esame forniscono un aiuto nella diagnosi di infezioni causate da *Cryptosporidium* e *Giardia*.

RIASSUNTO e SPIEGAZIONE

Cryptosporidium e *Giardia* rappresentano le principali cause di infezioni parassitarie intestinali. Entrambi gli organismi hanno diffusione mondiale e la trasmissione avviene tramite l'ingestione di cibo o acqua contaminati.

La giardiasi nell'uomo è causata dal protozoo *Giardia lamblia* (conosciuto anche come *Giardia intestinalis*). L'infezione acuta è caratterizzata da diarrea, nausea, crampi addominali, gonfiore, perdita di peso, malassorbimento, sintomi che possono perdurare per parecchie settimane. Possono anche verificarsi infezioni croniche o asintomatiche.^{1,2}

La cryptosporidiosi nell'uomo è causata dal coccidio *Cryptosporidium parvum*. I sintomi dell'infezione acuta consistono in diarrea, crampi addominali, perdita di appetito, febbre leggera, nausea e vomito che perdurano da parecchi giorni fino ad un mese. Nei pazienti immunocompromessi possono verificarsi infezioni severe e persistenti.¹ Le infezioni possono essere anche asintomatiche. Negli Stati Uniti il *Cryptosporidium* è responsabile di parecchi episodi epidemici legati all'ingestione di acqua contaminata.³

La diagnosi delle infezioni causate da *Cryptosporidium* e *Giardia* viene tradizionalmente eseguita mediante esame microscopico del campione fecale. Più recentemente vengono anche utilizzati test immunoenzimatici per l'identificazione di antigeni di *Cryptosporidium* e *Giardia* nel campione fecale.⁴⁻⁶

Il test **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** identifica tali antigeni utilizzando un metodo immunologico rapido.

PRINCIPIO del TEST

ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia è un test immunocromatografico qualitativo che identifica nello stesso momento ma separatamente gli antigeni di *Crypto* e *Giardia* in estratti acquosi dei campioni fecali ottenuti dai pazienti. Il campione fecale, raccolto in un flacone vuoto o in un medium di trasporto viene dispensato in una provetta contenente un tampone. Viene quindi aggiunto un anticorpo di cattura biotinilato anti-*Giardia* e una sospensione di anticorpi monoclonali anti *Giardia* e anti *Cryptosporidium* marcati con colorante colloidale. Il campione viene quindi mescolato e aggiunto al pozzetto della card che contiene un reagente di cattura (un derivato dell'avidina) per *Giardia*, un anticorpo di cattura anti-*Cryptosporidium* e un anticorpo di controllo che si lega agli anticorpi in eccesso, coniugati al colorante colloidale. Se l'antigene di *Giardia* è presente nel campione verrà visualizzata una banda grigio-nera nella zona GIAR della card. Se l'antigene di *Cryptosporidium* è presente nel campione verrà visualizzata una banda grigio-nera nella zona CRYP della card.

Affinchè il risultato sia considerato valido una banda nera deve essere sempre presente nella zona CONT: ciò indica il corretto funzionamento del colorante colloidale coniugato e il corretto flusso del campione per capillarità lungo la membrana.

COMPONENTI E REAGENTI del KIT

Card *Crypto/Giardia* confezionate singolarmente, costituite da: a) membrana su cui sono immobilizzati un derivato dell'avidina, anticorpi IgG di topo anti-*Cryptosporidium* e anticorpi di capra anti-IgG di topo. b) desiccante e involucro di plastica. (30)

- (2.8 mL) Soluzione per il trattamento del campione: Soluzione tampone contenente detergente. **ATTENZIONE:** contiene 0,1% Sodio Azide
- (1.8 mL) Reagente A - coniugato: anticorpi di coniglio anti-Giardia biotinilati in soluzione tampone contenente proteina carrier e detergente. **ATTENZIONE:** contiene < 0,1% Sodio Azide
- (1.8 mL) Reagente B - coniugato: anticorpi monoclonali diretti contro *Crypto/Giardia* marcati con colorante colloidale in soluzione tampone contenente proteine carrier e detergente. **ATTENZIONE:** contiene < 0,1% Sodio Azide
- (30) Pipette monouso per la dispensazione dei campioni
- (30) Provette per la diluizione dei campioni

PRECAUZIONI

1. Tutti i reagenti sono destinati esclusivamente ad uso diagnostico in vitro.
2. Non usare il kit oltre la data di scadenza.
3. I campioni dei pazienti possono contenere agenti infettivi, pertanto dovrebbero essere trattati come potenzialmente infetti anche nello smaltimento. Trasportare i campioni in base alle regolamentazioni locali per il trasporto di materiali contenenti agenti infettivi.
4. **ATTENZIONE:** il tampone per il trattamento del campione, il Reagente A coniugato, il Reagente B coniugato contengono Sodio Azide. La Sodio Azide può reagire con il piombo o con il rame delle tubature formando azidi metalliche esplosive. Quando si eliminano questi reagenti nelle condutture di scarico bisogna far scorrere molta acqua per evitare l'accumulo di azide nei tubi.
5. Non scambiare o mescolare reagenti appartenenti a lotti differenti.

DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

Per le nostre attuali conoscenze, non ci sono rischi associate a questo prodotto.

CONSERVAZIONE

Conservare il kit a 2-8 C (36-46 F) e riporre subito in frigo dopo l'utilizzo. **NON CONGELARE.**

TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

I campioni fecali raccolti per l'esame microscopico tradizionale di uova e parassiti intestinali sono idonei per l'esame con il test **ImmunoCard STAT! *Crypto/Giardia***. I campioni devono essere raccolti in flaconi di plastica puliti e a tenuta.

Per la raccolta, il trasporto e il test è preferibile utilizzare campioni conservati in flaconi contenenti SAF, formalina 10%, MIF, e in mezzi di trasporto Cary-Blair, C&S or Stuart. Si raccomanda di analizzare i campioni conservati in flaconi con fissativo MIF prima di aggiungere lo iodio. Non sono adatti i campioni conservati in PVA.

Campioni freschi (non conservati)

Campioni solidi, semi-solidi o liquidi sono accettabili, ma devono essere diluiti 1:4 in un mezzo di trasporto accettabile prima di effettuare il test. Se il mezzo di trasporto non è disponibile, è possibile utilizzare acqua distillata o deionizzata. Per campioni solidi o semi-solidi, miscelare il campione con una paletta in legno o materiale equivalente prima della diluizione.

Per la diluizione 1:4:

- Prelevare l'equivalente di un 1 mL di campione e aggiungere 3 mL di un mezzo di trasporto accettabile
- Miscelare bene e procedere con il test

I mezzi di trasporto **Cary-Blair, C&S e MIF** possono interferire con alcuni metodi di conferma. Per effettuare i test di conferma è consigliabile conservare i campioni dei pazienti in mezzi di trasporto alternativi. Come per tutti i metodi di analisi, prima dell'uso consultare le informazioni sulle prestazioni e i limiti del prodotto. I **campioni di feci fresche o conservate in terreno di Stuart** devono essere analizzati non appena possibile dal momento della raccolta poiché non sono disponibili dati validati circa la stabilità di questi campioni per tempi prolungati.

I campioni conservati in Formalina e SAF possono essere congelati (-20 C o -70 C), refrigerati (2 -8 C) o conservati a temperatura ambiente (20 -30 C) e dovrebbero essere analizzati entro 2 mesi dalla raccolta	I campioni conservati in Cary-Blair e C&S possono essere refrigerati (2 -8 C) e analizzati entro 2 settimane dalla raccolta o congelati (-20 C) e analizzati entro 2 mesi dalla raccolta	I campioni conservati in MIF possono essere congelati (-20 C), refrigerati (2 -8 C) o conservati a temperatura ambiente (20 -30 C) e dovrebbero essere analizzati entro 2 mesi dalla raccolta
---	--	---

CONTROLLO DI QUALITA'

Il kit **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** presenta alcune caratteristiche che consentono il controllo di qualità ogni volta che si esegue il test.

1. La presenza della banda di controllo consente di verificare che il reagente coniugato al colorante colloidale è stato correttamente aggiunto al pozzetto della card che è funzionalmente attivo, che l'anticorpo adesivo a livello della banda di controllo è funzionalmente attivo e che si è instaurato un adeguato flusso capillare nel dispositivo.
2. La sequenza di aggiunta dei reagenti alla provetta permette all'utilizzatore di monitorare visivamente la procedura: la Soluzione per il trattamento del campione viene aggiunta ad una provetta; il campione fecale è osservabile visivamente; il Reagente A coniugato contiene un colorante rosso; il Reagente B coniugato è di colore nero.
3. I requisiti del controllo di qualità vanno stabiliti in conformità alle normative locali, statali e nazionali o a quelle stabilite dagli enti di accreditamento. Meridian Bioscience raccomanda di eseguire controlli esterni positivi e negativi con ogni nuovo lotto e con ogni nuovo operatore non addestrato.

MATERIALI FORNITI

Ogni kit **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** contiene reagenti sufficienti per eseguire 30 test:

Card confezionate singolarmente (30)

Reagente A coniugato (1.8 mL)

Provette per la diluizione del campione (30)

Schema della procedura

Tampone per il trattamento del campione (2.8 mL)

Reagente B coniugato (1.8 mL)

Pipette per la dispensazione del campione (30)

Procedura

MATERIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Flaconi per la raccolta e il trasporto del campione. SAF (900212), formalina 10% (900412), C&S (900612), Cary-Blair, MIF.

Orologio o timer.

NOTE PROCEDURALI

1. Attendere che i componenti del kit e i campioni raggiungano temperatura ambiente prima dell'uso. Mescolare più volte i reagenti liquidi per inversione prima dell'uso. Riporre il kit in frigo **subito dopo l'utilizzo**.
2. Aprire le buste contenenti le card solo immediatamente prima dell'uso.
3. E' possibile eseguire più test contemporaneamente. Utilizzare provette e pipette diverse per ogni campione.
4. Per prevenire ogni possibile contaminazione evitare di toccare con il tappo gocciolatore della Soluzione per il trattamento del campione, del Reagente A coniugato, del Reagente B coniugato le provette di diluizione, le card, e qualunque altro materiale entrato in contatto con i campioni dei pazienti.
5. Al fine di minimizzare gli sprechi di reagente e per meglio controllare la quantità delle gocce dispensate dai flaconi di reagente, si consiglia di:
 - Conservare i flaconi di reagenti in posizione verticale.
 - Dopo aver tolto il coperchio, asciugare completamente l'estremità del flacone con carta assorbente, assicurandosi di rimuovere tutto il liquido.
 - Durante la dispensazione tenere il flacone in posizione verticale. Se si eseguono più campioni alla volta, lasciare entrare aria nel flacone prima di effettuare la dispensazione nei successivi test.
 - Se in qualsiasi momento si notano depositi di liquido all'estremità del dispensatore, asciugare con carta assorbente prima di dispensare.
 - Non agitare con forza né passare al vortex i reagenti.
6. Non concentrare i campioni dei pazienti. Durante il campionamento, utilizzare la porzione liquida del campione. Si raccomanda di lasciar depositare il precipitato in modo che il campione possa essere più facilmente dispensato.
7. Tutti i campioni freschi o non conservati, inclusi campioni liquidi, devono essere diluiti approssimativamente 1:4 in uno dei mezzi di trasporto accettabili prima di essere utilizzati con questo test (vedi RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI).
8. La sequenza di aggiunta dei reagenti nella provetta del campione consente all'utilizzatore di monitorare visivamente la procedura: la Soluzione per il trattamento del campione viene aggiunta ad una provetta vuota; il campione fecale è osservabile visivamente; il Reagente A coniugato contiene un colorante rosso; il Reagente B coniugato è di colore nero.

PROCEDURA DEL TEST

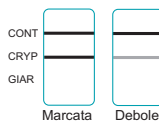
1. Estrarre il numero di card necessarie dalle rispettive buste sigillate. Disporre la provetta per la diluizione del campione nell'apposito rack del kit o in un comune portaprovette.
2. Aggiungere due gocce di Soluzione per il trattamento del campione nella provetta per la diluizione.
3. Utilizzare la pipetta di trasferimento del campione per aspirare il campione liquido del paziente: premere il bulbo superiore della pipetta, inserire l'estremità aperta nel campione e rilasciare la pressione esercitata sul bulbo mentre la pipetta è ancora nel campione. Aspirare il campione fino alla linea di calibrazione di 60 µL. Trasferire il contenuto del tubicino della pipetta nella provetta di diluizione del campione.
Nota: Tutti i campioni freschi o non conservati, inclusi i campioni liquidi, devono essere diluiti approssimativamente 1:4 in uno dei mezzi di trasporto accettabili prima di essere utilizzati per questo test (vedi RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI). Se non è disponibile un mezzo di trasporto, è possibile utilizzare acqua distillata o deionizzata.
4. Agitare per inversione il reagente coniugato A. Aggiungere due gocce di Reagente coniugato A nella provetta di diluizione del campione.
5. Agitare per inversione il reagente coniugato B. Aggiungere due gocce di Reagente coniugato B nella provetta di diluizione del campione.
6. Mescolare il campione agitando manualmente la provetta o passandola sul vortex. Svuotare il contenuto della provetta di diluizione del campione nel pozzetto della card.
7. Leggere i risultati visivamente dopo 10 minuti. Trascorsi **15 minuti** i risultati non sono più validi.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Nota: le bande visibili, di colore compreso nella gamma del grigio o del nero, devono essere interpretate come positive. Le bande visibili, di colore compreso nella gamma del giallo o del marrone non devono essere interpretate come positive, ma piuttosto considerate un risultato non valido.

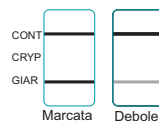
Risultato Positivo per *Cryptosporidium*

Una banda grigio-nera nella zona CRYP e CONT indica che l'antigene di *Cryptosporidium* è presente. Le bande visibili, comprese esclusivamente nella gamma del grigio o del nero, devono essere interpretate come positive. L'intensità delle bande grigio-nera può variare da debole a marcata. Non c'è alcuna correlazione diretta fra l'intensità della colorazione delle bande e la severità dell'infezione.



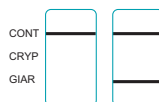
Risultato Positivo per *Giardia*

Una banda grigio-nera nella zona GIAR e CONT indica che l'antigene di *Giardia* è presente. Le bande visibili, comprese esclusivamente nella gamma del grigio o del nero, devono essere interpretate come positive. L'intensità delle bande grigio-nera può variare da debole a marcata. Non c'è alcuna correlazione diretta fra l'intensità della colorazione delle bande e la severità dell'infezione.



Risultato Negativo per *Cryptosporidium*

Se non è presente alcuna banda nella zona CRYP e una banda grigio-nera è visibile nella zona CONT, significa che l'antigene di *Cryptosporidium* è assente o al di sotto del limite di rilevazione del test. La zona GIAR può presentare una banda visibile grigio-nera o nessuna banda grigio-nera.



Risultato Negativo per *Giardia*

Se non è presente alcuna banda nella zona GIAR e una banda grigio-nera è visibile nella zona CONT, significa che l'antigene di *Giardia* è assente o al di sotto del limite di rilevazione del test. La zona CRYP può presentare una banda visibile grigio-nera o nessuna banda grigio-nera.



Risultati non validi

Se nella zona CONT non è presente alcuna banda, oppure nella zona CRYP o nella zona GIAR si osservano bande incomplete o granulose, i risultati non sono validi. Nel caso in cui il risultato non valido sia causato da una non corretta migrazione del campione a causa dell'elevato contenuto di particolato, il campione può essere diluito 1:2 con acqua deionizzata o con lo stesso mezzo di trasporto utilizzato per la raccolta ed esaminato nuovamente. In caso di risultato non valido il test deve essere ripetuto utilizzando un nuovo dispositivo.



Bande di colori diversi dal grigio o dal nero corrispondono a risultati che devono essere considerati non validi. Ripetere il test utilizzando un metodo alternativo o un campione diverso. Se si utilizza un metodo alternativo, verificare l'adeguatezza del conservante e dell'età del campione (vedere il paragrafo Trattamento dei campioni).

LIMITAZIONI DEL TEST

1. Come per tutti i test diagnostici, anche il test **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** dovrebbe essere utilizzato alla luce del quadro clinico del paziente e del risultato di tutti gli altri esami eseguiti.
2. Un risultato negativo può verificarsi in quei campioni contenenti livelli di antigene al di sotto del limite di rilevazione del test. Per i pazienti in cui si sospetta infezione da *Giardia* o *Cryptosporidium* si dovrebbero raccogliere più campioni in giorni successivi.
3. Il test è previsto per l'uso con campioni fecali conservati in un mezzo di trasporto adatto. L'uso di campioni provenienti da lavaggi e aspirati del colon, o altri tipi di campioni diluiti, non è stato verificato e potrebbe influire sulle prestazioni del test. Campioni fecali contaminati con prodotti oleosi o granulosi (ad esempio bario, olii minerali, ecc.) potrebbero interferire con il test e sono sconsigliati.

VALORI ATTESI

La prevalenza di *Cryptosporidium* e *Giardia* è variabile nelle diverse popolazioni e aree geografiche. L'incidenza dell'infezione da *Giardia* nelle regioni più sviluppate è circa il 2-5%; l'incidenza dell'infezione da *Cryptosporidium* in Europa e Nord America è circa l'1-3%.³ Valori di prevalenza più elevati possono verificarsi nei bambini e nei pazienti immunocompromessi.¹⁻³

PRESTAZIONI CARATTERISTICHE

Sensibilità e Specificità

Il test **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** è stato valutato in uno studio multicentrico prospettivamente e retrospettivamente. I risultati del test sono stati confrontati con quelli ottenuti all'esame microscopico tradizionale per i parassiti intestinali.

Nello studio retrospettivo, sono stati esaminati campioni appartenenti ad un pannello di campioni conservati in formalina precedentemente caratterizzati. I risultati del test **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** sono stati confrontati con quelli ottenuti all'esame microscopico. L'esame microscopico includeva colorazioni standard per parassiti intestinali come *Giardia*, colorazione acid fast modificata per *Cryptosporidium*. Sui risultati discrepanti è stata eseguita una colorazione specifica in fluorescenza per *Crypto/Giardia*.

Risultati per <i>Cryptosporidium</i> :		Risultati ImmunoCard STAT! <i>Cryptosporidium</i>	
		+	-
Esame microscopico per <i>Cryptosporidium</i>	+	36	1
	-	0	105

Sensibilità: $36/37 = 97,3\%$ (intervallo di confidenza al 95% è 85,8 – 100%).

Specificità: $105/105 = 100\%$ (intervallo di confidenza al 95% è 96,6 – 100%).

Il campione discordante è stato esaminato con il test in fluorescenza ed è risultato positivo per *Cryptosporidium*. Probabilmente tale campione conteneva livelli di antigene inferiori al limite di identificazione del metodo.

Risultati per <i>Cryptosporidium</i> :		Risultati ImmunoCard STAT! <i>Cryptosporidium</i>	
		+	-
Test EIA rapido per <i>Cryptosporidium</i>	+	36	0
	-	0	106

Concordanza relativa* tra il test **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** e il test EIA rapido per *Cryptosporidium*: $142/142 = 100\%$.

*Note: Il termine "relativa" indica che i risultati si riferiscono al confronto dei risultati di tale test con quelli di un test simile. Non c'è nessuna correlazione tra i risultati del test e la presenza/assenza dell'infezione. Non può essere data alcuna interpretazione sull'accuratezza del test per predire l'infezione.

Risultati per <i>Giardia</i> :		Risultati ImmunoCard STAT! <i>Giardia</i>	
		+	-
Esame microscopico per <i>Giardia</i>	+	33	0
	-	0	109

Sensibilità: $33/33 = 100\%$ (intervallo di confidenza al 95% è 89,4 – 100%).

Specificità: $109/109 = 100\%$ (intervallo di confidenza al 95% è 96,7 – 100%).

Risultati per *Giardia*:

Risultati ImmunoCard STAT! <i>Giardia</i>	
+	-
Test EIA rapido per <i>Giardia</i>	
+	29
-	4
	109

Quattro campioni discrepanti sono risultati positivi per *Giardia* all'esame microscopico.

Concordanza relativa* tra il test **ImmunoCard STAT! Crypto/*Giardia*** e il test EIA rapido per *Giardia*: $138/142 = 97,2\%$.

*Note: Il termine "relativa" indica che i risultati si riferiscono al confronto dei risultati di tale test con quelli di un test simile. Non c'è nessuna correlazione tra i risultati del test e la presenza/assenza dell'infezione. Non può essere data alcuna interpretazione sull'accuratezza del test per predire l'infezione.

E' stato condotto negli Stati Uniti uno studio prospettico in tre siti separati geograficamente su campioni caratterizzati. Sono stati esaminati un totale di 502 campioni utilizzando il test **ImmunoCard STAT! Crypto/*Giardia***. I risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti con l'esame microscopico per la ricerca di parassiti intestinali in combinazione con la colorazione acid-fast per *Cryptosporidium*.

Risultati per *Cryptosporidium*:

Risultati ImmunoCard STAT! <i>Cryptosporidium</i>	
+	-
Esame microscopico per <i>Cryptosporidium</i>	
+	73
-	2
	427

Sensibilità: $73/73 = 100\%$ (intervallo di confidenza al 95% è 95,1 – 100%).

Specificità: $427/429 = 99,5\%$ (intervallo di confidenza al 95% è 98,3 – 99,9%).

Due campioni sono risultati potenzialmente falsi positivi per *Cryptosporidium*. Questi campioni provenivano da due pazienti per i quali l'infezione da *Cryptosporidium* non poteva essere provata mediante ripetizione dell'esame microscopico.

Risultati per *Giardia*:

Risultati ImmunoCard STAT! <i>Giardia</i>	
+	-
Esame microscopico per <i>Giardia</i>	
+	50
-	4
	448

Sensibilità: $50/50 = 100\%$ (intervallo di confidenza al 95% è 92,9 – 100%).

Specificità: $448/452 = 99,1\%$ (intervallo di confidenza al 95% è 97,8 – 99,8%).

Quattro campioni sono risultati potenzialmente falsi positivi per *Giardia* al test **ImmunoCard STAT! Crypto/*Giardia***. La verifica di tale discrepanza ha evidenziato che tutti e quattro i campioni provenivano da pazienti risultati positivi per *Giardia* all'esame microscopico eseguito su campioni prelevati in un altro momento.

Riproducibilità del test

Un pannello di 15 campioni costituiti da cinque replicati di un campione basso positivo per *Giardia*, cinque replicati di un campione basso positivo per *Cryptosporidium*, e cinque replicati di un campione negativo sono stati esaminati in cinque momenti diversi dal personale di due laboratori di parassitologia.

La riproducibilità intra-saggio ha evidenziato una concordanza del 100% (CV 0%) tra tutti i replicati in ciascun saggio. La riproducibilità inter-saggio ha evidenziato una concordanza del 100% (CV 0%) tra tutti i risultati nei 10 diversi momenti in cui il pannello è stato valutato.

Crossreazioni

Il test **ImmunoCard STAT!** *Crypto/Giardia* è stato utilizzato su campioni risultati positivi per altri parassiti intestinali all'esame microscopico.

La parte del test specifica per *Giardia* non evidenziava crossreazione con i seguenti organismi:

<i>Ascaris lumbricoides</i> (1)	<i>Entamoeba coli</i> (14)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (13)
<i>Blastocystis hominis</i> (58)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (12)	<i>Microsporidies</i> (1)
<i>Chilomastix mesnili</i> (5)	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (14)	<i>Strongyloides stercoralis</i> (2)
<i>Cryptosporidium parvum</i> (121)	<i>Enterobius vermicularis</i> (1)	<i>Taenia sp.</i> (1)
<i>Cyclospora cayentanensis</i> (1)	<i>Enteromonas hominis</i> (2)	<i>Trichomonas hominis</i> (1)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (14)	<i>Ankylostome</i> (1)	
<i>Endolimax nana</i> (28)	<i>Hymenolepsis nana</i> (3)	

Il numero in parentesi indica il numero di campioni esaminati per ogni organismo.

La parte del test specifica per *Cryptosporidium* non evidenziava crossreazione con i seguenti organismi:

<i>Ascaris lumbricoides</i> (1)	<i>Entamoeba coli</i> (21)	<i>Hymenolepsis nana</i> (4)
<i>Blastocystis hominis</i> (92)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (20)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (12)
<i>Chilomastix mesnili</i> (6)	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (19)	<i>Microsporidies</i> (1)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (1)	<i>Enteromonas hominis</i> (2)	<i>Strongyloides stercoralis</i> (2)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (16)	<i>Giardia lamblia</i> (132)	<i>Taenia sp.</i> (2)
<i>Endolimax nana</i> (48)	<i>Ankylostome</i> (1)	<i>Trichomonas hominis</i> (1)

Il numero in parentesi indica il numero di campioni esaminati per ogni organismo.

immunocard STAT!®

Crypto/Giardia Rapid Assay

REF 750830

IVD Rx Only

Test rapide pour la détection qualitative directe des antigènes spécifiques
de *Cryptosporidium parvum* et *Giardia lamblia*.

APPLICATION

Le coffret **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** est un test immunochromatographique rapide pour la détection qualitative des antigènes spécifiques de *Cryptosporidium parvum* et *Giardia lamblia* dans des extraits aqueux d'échantillons de selles humaines. Il est destiné au diagnostic in vitro, et fournit une aide à la détection d'infections causées par *Cryptosporidium* ou *Giardia* par les laboratoires d'analyse.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Cryptosporidium et *Giardia* sont reconnus comme étant les causes les plus fréquentes de maladies parasitaires intestinales. Ces deux organismes sont retrouvés dans tous les pays. La transmission se fait habituellement par ingestion d'eau ou de nourriture contaminée.

La giardiose est provoquée chez les humains par le parasite protozoaire *Giardia lamblia* (nommé également *Giardia intestinalis*). La maladie aiguë est caractérisée par des diarrhées aqueuses, des nausées, des crampes abdominales, des ballonnements et une perte de poids, ces symptômes pouvant durer plusieurs semaines. Des infections chroniques ou asymptomatiques peuvent également survenir.^{1,2}

La cryptosporidiose humaine est provoquée par le parasite coccidien *Cryptosporidium parvum*. Les symptômes d'une infection aiguë sont également des diarrhées aqueuses, des crampes abdominales, une perte d'appétit, une fièvre légère, des nausées et des vomissements qui durent de plusieurs jours à plus d'un mois. Des infections sévères persistantes peuvent survenir chez les patients immunodéprimés.¹ L'infection peut également être asymptomatique. Le parasite a été impliqué dans plusieurs épidémies dues à l'eau aux Etats-Unis.³

Le diagnostic d'une infection à *Cryptosporidium* ou *Giardia* est habituellement fait par examen microscopique des selles. Plus récemment, la détection des antigènes de *Cryptosporidium* et *Giardia* par des tests immunoenzymatiques dans les échantillons de selles est devenue une approche reconnue pour le diagnostic.⁴⁻⁶ Le coffret **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** détecte les mêmes antigènes, sous un format de test rapide non-enzymatique.

PRINCIPE DU TEST

ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia est un test qualitatif immunochromatographique rapide, qui permet la détection simultanée des antigènes de *Cryptosporidium* ou *Giardia*, sous la forme de deux bandes séparées, dans des extraits aqueux d'échantillons de selles.

L'échantillon, prélevé et conservé dans un milieu de transport ou de conservation, est déposé dans un tube contenant un tampon de traitement. Un anticorps de capture biotinylé anti-*Giardia* est alors ajouté, puis il est suivi par un mélange en suspension d'anticorps monoclonaux dirigés contre *Giardia* et *Cryptosporidium*, et marqués par un composé colloïdal. L'ensemble est mélangé, et déposé sur la carte de test qui contient un réactif de capture de *Giardia* (dérivé de l'avidine), un anticorps de capture de *Cryptosporidium*, et un anticorps de contrôle sur lequel se lie le conjugué marqué en excès.

Si des antigènes de *Giardia* sont présents dans l'échantillon, une bande gris-noir se développe au niveau de l'indication GIAR sur la carte de test. Si des antigènes de *Cryptosporidium* sont présents dans l'échantillon, une bande gris-noir se développe au niveau de l'indication CRYP sur la carte de test. L'apparition d'une bande noire au niveau de l'indication CONT (contrôle) est impérative pour que le résultat du test soit valide. Cela indique que le conjugué colloïdal est intact, et que la migration par capillarité s'est effectuée correctement.

COMPOSITION DU COFFRET ET REACTIFS

Les cartes de test fournies dans un sachet fermé consistent en a) une membrane recouverte d'un dérivé de l'avidine, un anticorps de souris anti-*Cryptosporidium*, et un anticorps IgG de chèvre anti-souris, b) du matériel d'absorption, un dessicatif, et une structure en plastique (30 par coffret).

(2,8 mL)	<i>Tampon de traitement des échantillons: solution tamponnée contenant un détergent. ATTENTION: contient 0,1% d'azide de sodium.</i>
(1,8 mL)	<i>Réactif Conjugué A: anticorps de lapin biotinylés anti-Giardia, dans un tampon de dilution contenant des protéines transporteurs et un détergent. ATTENTION: contient < 0,1% d'azide de sodium.</i>
(1,8 mL)	<i>Réactif Conjugué B: anticorps monoclonaux marqués par un composé colloïdal, dirigés contre Giardia, dans un tampon de dilution contenant des protéines transporteurs et un détergent. ATTENTION: contient < 0,1% d'azide de sodium.</i>
(1 sachet de 30)	<i>Pipettes de transfert des échantillons.</i>
(1 sachet de 30)	<i>Tubes de dilution des échantillons.</i>

PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Ce test est destiné au diagnostic in vitro uniquement.
2. Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
3. Les échantillons des patients peuvent contenir des agents infectieux. Ils devront être manipulés par un personnel correctement entraîné, et éliminés comme du matériel potentiellement infectieux. Porter des gants jetables lors de la manipulation des échantillons et pendant la réalisation du test.
4. ATTENTION: le tampon de traitement des échantillons, le Conjugué réactif A et le Conjugué réactif B contiennent de l'azide de sodium. L'azide de sodium peut réagir avec les canalisations en plomb ou en cuivre pour former des composés d'azide de métal hautement explosifs. Pour l'évacuation des réactifs dans les canalisations, rincer à grandes eaux afin d'éviter la formation d'azide dans les tuyaux.
5. Ne pas intervertir les réactifs ou mélanger de composants provenant de différents lots.

DANGER ET MISES EN GARDE

A notre connaissance, il n'y pas de risque connu associé à ce produit.

CONSERVATION

Le coffret **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** doit être conservé à 2-8 C (36-46 F) en laissant les cartes dans leur sachet scellé, et doit être replacé au réfrigérateur rapidement après chaque utilisation.

NE PAS CONGELER.

PRELEVEMENT ET TRAITEMENT DES ECHANTILLONS

Les échantillons de selles récoltés pour l'examen microscopique classique des parasites peuvent être utilisés dans le test *Crypto/Giardia*. Les échantillons doivent être conservés dans des récipients propres étanches en plastique.

Il est préférable d'utiliser les fixateurs SAF, formol 10%, MIF, et les milieux de transport Cary-Blair, C&S ou Stuart pour les échantillons, que ce soit pour le prélèvement, le transport ou le test. Il est recommandé que les échantillons prélevés dans le fixateur MIF soient analysés avant l'ajout de l'iode. Les échantillons conservés dans du PVA ne conviennent pas pour ce test.

Les échantillons frais (non fixés)

Les échantillons solides, semi-solides ou liquides sont acceptables, mais ils doivent être dilués au 1:4 dans un milieu de transport approprié avant de réaliser le test. Si aucun milieu de transport n'est disponible, il est possible d'utiliser de l'eau distillée ou désionisée. Pour les échantillons solides ou semi-solides, mélanger l'échantillon en utilisant une spatule en bois ou équivalent avant la dilution.

Pour réaliser une dilution au 1:4 :

- Prélever l'équivalent de 1 mL d'échantillon mélangé, et le déposer dans 3 mL d'un milieu de transport approprié.
- Mélanger soigneusement et réaliser le test.

Les milieux **Cary-Blair**, **C&S** et le **MIF** peuvent interférer avec certaines méthodes d'analyse de confirmation. Il est recommandé d'utiliser un autre milieu de transport pour l'analyse de confirmation. Comme pour tout test, les notices concernant la performance et les limites du produit doivent être lues avant l'utilisation. **Les échantillons frais et les échantillons conservés dans le milieu de transport Stuart** doivent être testés dès que possible après prélèvement car l'influence d'une longue conservation n'a pas été évaluée.

Les échantillons conservés dans le SAF et le formol peuvent être conservés congelés (-20 C ou -70 C), réfrigérés (2 à 8 C) ou à température ambiante (20 à 30 C). Ils doivent être testés dans les deux mois qui suivent le prélèvement.	Les échantillons dilués dans le milieu Cary Blair ou C&S peuvent être conservés réfrigérés (2 à 8 C) et testés dans les deux semaines après prélèvement, ou congelés (-20 C) et testés dans les deux mois qui suivent le prélèvement.	Les échantillons conservés dans le MIF peuvent être conservés congelés (-20 C), réfrigérés (2 à 8 C) ou à température ambiante (20 à 30 C). Ils doivent être testés dans les deux mois qui suivent le prélèvement.
--	---	--

CONTROLE DE QUALITE

Différents points du test *Crypto/Giardia* permettent un contrôle de qualité de routine:

1. L'apparition d'une bande contrôle à la position indiquée permet de vérifier qu'un conjugué colloïdal intact a été ajouté sur la carte, que la ligne contrôle est fonctionnelle, et qu'une migration par capillarité s'est effectuée correctement.
2. Des échantillons de patient documentés et préservés dans une solution formolée peuvent être utilisés comme contrôles externes positif et négatif. Ces échantillons doivent être testés de la même manière qu'un échantillon de test en suivant la procédure décrite ci-dessous.
3. Il est recommandé d'effectuer les contrôles de la qualité d'après les exigences des réglementations locales, nationales ou les organismes d'accréditation. Meridian Bioscience recommande au minimum d'utiliser des contrôles externes positif et négatif à l'ouverture de chaque nouveau numéro de lot, ou en cas de manipulation par une personne non familiarisée avec ce test.

MATERIEL FOURNI

Chaque coffret de **ImmunoCard STAT!** *Crypto/Giardia* contient les réactifs nécessaires à 30 tests:

Cartes de test emballées (30)

Réactif conjugué A (1,8 mL)

Tubes de dilution des échantillons (30)

Carte de procédure

Tampon de traitement des échantillons (2,8 mL)

Réactif conjugué B (1,8 mL)

Pipettes de transfert des échantillons (30)

Notice d'utilisation

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI

Matériel de prélèvement et transport des échantillons.

SAF (900212), Formol 10% (900412), C&S (900612), ou milieu Cary-Blair, MIF.

Minuteur.

REMARQUES SUR LA PROCEDURE

1. Amener tous les composants du coffret et les échantillons à température ambiante avant de réaliser le test. Mélanger les réactifs liquides avant utilisation en retournant les flacons plusieurs fois. Remettre rapidement le coffret au réfrigérateur **après chaque utilisation**.
2. Ne pas retirer les cartes de test de leur emballage avant que les réactifs ne soient prêts à l'emploi.
3. Plusieurs tests peuvent être réalisés en même temps. Utiliser des tubes à dilution et des pipettes différents pour chaque échantillon.
4. Pour éviter les contaminations, éviter de poser l'embout compte-gouttes des flacons de tampon de traitement des échantillons, réactif conjugué A, réactif conjugué B sur les tubes de dilution et les cartes de test. Ne pas toucher les embouts avec les pipettes ni avec aucun autre matériel qui a été en contact direct avec les échantillons des patients.
5. Afin de minimiser la perte de réactifs et contrôler précisément la taille des gouttes distribuées, les étapes suivantes sont conseillées:
 - Conserver les flacons de réactifs en position verticale.
 - Après avoir enlevé le bouchon, essuyer soigneusement l'embout avec un papier absorbant de laboratoire et s'assurer que tout le liquide excédent est ôté.
 - Tenir les flacons au plus près de la verticale pour distribuer les gouttes de réactifs. Pour des tests successifs, laisser entrer l'air dans le flacon avant de distribuer les gouttes du test suivant.
 - Essuyer soigneusement tout liquide présent sur l'embout à n'importe quel moment du test avec un papier absorbant de laboratoire, avant de déposer d'autres gouttes.
 - Ne pas agiter vigoureusement ni vortexer les réactifs.
6. Ne pas concentrer les échantillons des patients. Lors de l'échantillonnage, utiliser la partie liquide de l'échantillon. Il est recommandé de laisser sédimenter les particules pour qu'il soit plus facile de pipeter l'échantillon.

7. Tous les échantillons frais ou non fixés, ainsi que les échantillons liquides, doivent être dilués au 1:4 approximativement, dans un des milieux de transport acceptables pour ce test (voir paragraphe PRELEVEMENT ET TRAITEMENT DES ECHANTILLONS).
8. La séquence d'addition des réactifs dans le tube échantillon permet à l'utilisateur de suivre visuellement la procédure: le tampon de traitement des échantillons est déposé dans un tube vide; l'échantillon de selles est observable visuellement; le réactif conjugué A présente une coloration rouge incorporée et le réactif conjugué B a une couleur noire.

PROCEDURE DU TEST

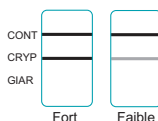
1. Retirer la carte de test du sachet et la placer sur une surface plate. Placer un tube de dilution des échantillons sur un portoir de tubes adapté.
2. Déposer 2 gouttes de Tampon de traitement des échantillons dans le tube de dilution.
3. En utilisant la pipette de transfert des échantillons, aspirer l'échantillon aqueux de selles du patient: presser le réservoir supérieur de la pipette, mettre l'extrémité ouverte de la pipette dans l'échantillon, et relâcher doucement la pression sur le réservoir pour aspirer. Pipeter jusqu'au repère 60 µL. Transférer le contenu de la pipette dans le tube de dilution des échantillons. **Remarque: tous les échantillons frais ou non fixés, ainsi que les échantillons liquides, doivent être dilués au 1:4 approximativement, dans un des milieux de transport acceptables pour ce test (voir paragraphe PRELEVEMENT ET TRAITEMENT DES ECHANTILLONS).** Lorsque le milieu de transport n'est pas disponible, il est possible d'utiliser de l'eau distillée ou désionisée.
4. Mélanger soigneusement par inversion le flacon de Réactif conjugué A. Ajouter 2 gouttes de Réactif conjugué A dans le tube de dilution des échantillons.
5. Mélanger soigneusement par inversion le flacon de Réactif conjugué B. Ajouter 2 gouttes de Réactif conjugué B dans le tube de dilution des échantillons.
6. Mélanger l'échantillon et les réactifs en remuant manuellement ou en vortexant. Déposer le contenu total du tube de dilution dans le puits échantillon de la carte de test.
7. Lire visuellement les résultats du test après 10 minutes. Les résultats lus après **15 minutes ne sont pas valides.**

INTERPRETATION DES RESULTATS

Remarque: Seule une bande de test visible dans les tons gris ou noir doit être considérée comme une réaction positive. Des bandes dans les tons jaune ou brun ne sont pas considérées comme positives, mais sont rendues comme test non valide.

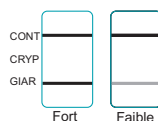
Positif pour *Cryptosporidium*

La présence de bandes gris-noir visibles aux positions CRYP et CONT indique que des antigènes de cryptosporidium ont été détectés. Seules les bandes visibles dans les tons gris ou noir doivent être prises en considération pour interpréter le test comme positif. L'intensité des bandes gris-noir peut varier de faible à forte. Il n'existe aucune corrélation entre l'intensité des bandes du test et la sévérité de l'infection.



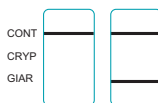
Positif pour *Giardia*

La présence de bandes gris-noir visibles aux positions GIAR et CONT indique que des antigènes de *Giardia* ont été détectés. Seules des bandes visibles dans les tons gris ou noir doivent être prises en considération pour interpréter le test comme positif. L'intensité des bandes gris-noir peut varier de faible à forte. Il n'existe aucune corrélation entre l'intensité des bandes du test et la sévérité de l'infection.



Négatif pour *Cryptosporidium*

Aucune bande visible à la position CRYP, et une bande gris-noir visible à la position CONT, indiquent que les antigènes de *Cryptosporidium* sont absents, ou en-dessous du seuil de détection. La position GIAR peut montrer une bande gris-noir ou aucune bande gris-noir.



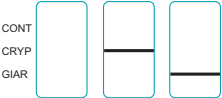
Négatif pour *Giardia*

Aucune bande visible à la position GIAR, et une bande gris-noir visible à la position CONT, indiquent que les antigènes de *Giardia* sont absents, ou en dessous du seuil de détection. La position CRYP peut montrer une bande gris-noir ou aucune bande gris-noir.



Résultats non valides

Si aucune bande n'apparaît à la position CONT ou qu'une bande incomplète ou en pointillé apparaît à la position CRYPT ou GIAR, le test est considéré comme non valide. Dans les situations où une migration par capillarité correcte ne se produit pas à cause d'un excès de particules dans l'échantillon, il est possible de diluer l'échantillon deux fois dans de l'eau distillée, ou dans le milieu de transport dans lequel il a été prélevé, et de refaire le test. Il doit être répété en utilisant une autre carte. **Des bandes dans les tons autres que gris ou noir doivent être considérées comme non valides.** Répéter le test en utilisant une autre méthode ou un échantillon différent. Si une autre méthode est utilisée, vérifier que le conservateur utilisé et que l'ancienneté de l'échantillon sont appropriés (voir PRELEVEMENT ET TRAITEMENT DES ECHANTILLONS).



LIMITES DE LA PROCEDURE

- 1. Comme c'est le cas dans toutes les procédures de diagnostic, les résultats obtenus avec le test **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** doivent être interprétés par le médecin en fonction de toutes les autres observations cliniques disponibles.
- 2. Des résultats négatifs peuvent être obtenus pour les échantillons contenant une quantité d'antigènes inférieure au seuil de détection du test. Plusieurs échantillons prélevés sur plusieurs jours seront testés, dans le cas de patients supposés positifs pour *Giardia* ou *Cryptosporidium*.
- 3. Le test est conçu pour être utilisé avec des échantillons de selles prélevés dans un milieu de transport approprié. L'utilisation d'échantillons obtenus par lavages coliques, aspiration ou dilués n'a pas été évaluée et peut influencer la performance du dosage. Les échantillons de selles contaminés par des produits à base huileuse ou particulière (p. ex. baryum, huile minérale, etc.) peuvent interférer avec le test et ne sont pas recommandés.

VALEURS ATTENDUES

La prévalence de *Cryptosporidium* et *Giardia* est variable en fonction des populations et des zones géographiques. L'incidence de *Giardia* dans les pays développés est d'environ 2-5%. L'incidence de *Cryptosporidium* en Europe et en Amérique du Nord est d'environ 1-3%.³ Des taux de prévalence plus élevés peuvent être observés chez les enfants et chez les personnes immunodéprimées.¹⁻³

PERFORMANCES DU TEST

Sensibilité et spécificité

Une évaluation clinique du test **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** a été réalisée dans plusieurs sites, de manière à la fois prospective et rétrospective. Les résultats du test ont été comparés à ceux de l'examen microscopique classique.

Dans l'étude rétrospective, un panel d'échantillons connus de patients, conservés dans du formol, ont été utilisés. Le test a été comparé aux résultats de l'examen microscopique, et à un test Elisa rapide. L'examen microscopique a inclus les méthodes de coloration classiques pour *Giardia* et les autres parasites, la coloration acid-fast modifiée pour *Cryptosporidium*, et un marquage par immunofluorescence pour *Crypto/Giardia* en cas de discordance.

Résultats pour
Cryptosporidium:

		Résultats ImmunoCard STAT! Cryptosporidium	
		+	-
Examen microscopique pour Cryptosporidium	+	36	0
	-	0	105

Sensibilité: 36/37 = 97,3% (l'intervalle de confiance à 95% est de 85,8 – 100%).

Spécificité: 105/105 = 100% (l'intervalle de confiance à 95% est de 96,6 – 100%).

L'échantillon discordant a été vérifié par immunofluorescence, et a été trouvé positif pour *Cryptosporidium*. Il contenait probablement un niveau d'antigène inférieur à la limite de détection du test.

Résultats pour
Cryptosporidium:

		Résultats ImmunoCard STAT! Cryptosporidium	
		+	-
Test EIA rapid pour Cryptosporidium	+	36	0
	-	0	106

Concordance relative* entre le test, et le test rapide *Cryptosporidium* EIA: 142/142 = 100%.

*Remarque: Le terme "relative" signifie que les résultats du test ont été comparés aux résultats obtenus avec un test équivalent. Il n'y a eu aucun essai de corrélation entre les résultats du test et la présence ou l'absence de maladie. Aucune interprétation ne peut être faite en ce qui concerne la précision du test pour prédire la maladie.

Résultats pour *Giardia*:

		Résultats ImmunoCard STAT! <i>Giardia</i>	
		+	-
Examen microscopique pour <i>Giardia</i>	+	33	0
	-	0	109

Sensibilité: $33/33 = 100\%$ (l'intervalle de confiance à 95% est de 89,4 – 100%).

Spécificité: $109/109 = 100\%$ (l'intervalle de confiance à 95% est de 96,7 – 100%).

Résultats pour *Giardia*:

		Résultats ImmunoCard STAT! <i>Giardia</i>	
		+	-
Test EIA rapid pour <i>Giardia</i>	+	29	0
	-	4	109

Les quatre échantillons discordants étaient positifs pour *Giardia* à l'examen microscopique.

Concordance relative* entre le test, et le test rapide *Giardia* EIA: $138/142 = 97,2\%$.

*Remarque: Le terme "relative" signifie que les résultats du test ont été comparés aux résultats obtenus avec un test équivalent. Il n'y a eu aucun essai de corrélation entre les résultats du test et la présence ou l'absence de maladie. Aucune interprétation ne peut être faite en ce qui concerne la précision du test pour prédire la maladie.

L'étude prospective a été conduite aux Etats-Unis sur des échantillons caractérisés dans trois sites séparés géographiquement. Un total de 502 échantillons a été testé avec le coffret **ImmunoCard STAT! Crypto/*Giardia***. Les résultats ont été comparés à l'examen microscopique combiné à la coloration acid-fast modifiée pour *Cryptosporidium*.

Résultats pour *Cryptosporidium*:

		Résultats ImmunoCard STAT! <i>Cryptosporidium</i>	
		+	-
Examen microscopique pour <i>Cryptosporidium</i>	+	73	0
	-	2	427

Sensibilité: $73/73 = 100\%$ (l'intervalle de confiance à 95% est de 95,1 – 100%).

Spécificité: $427/429 = 99,5\%$ (l'intervalle de confiance à 95% est de 98,3 – 99,9%).

Deux échantillons potentiellement faux positifs pour *Cryptosporidium* ont été trouvés selon les données ci-dessus. Ces échantillons provenaient de patients pour lesquelles une infection à *Cryptosporidium* n'a pas pu être détectée par un examen microscopique répété.

Résultats pour *Giardia*:

		Résultats ImmunoCard STAT! <i>Giardia</i>	
		+	-
Examen microscopique pour <i>Giardia</i>	+	50	0
	-	4	448

Sensibilité: $50/50 = 100\%$ (l'intervalle de confiance à 95% est de 92,9 – 100%).

Spécificité: $448/452 = 99,1\%$ (l'intervalle de confiance à 95% est de 97,8 – 99,8%).

Quatre échantillons potentiellement faux positifs pour *Giardia* ont été trouvés avec le test **ImmunoCard STAT! Crypto/*Giardia***. Les études de discordance ont montré que ces quatre échantillons provenaient de patients positifs à *Giardia* lors de l'examen microscopique d'un autre prélèvement.

Reproductibilité du test

Un panel de 15 échantillons composé de cinq réplicats d'un échantillon positif faible pour *Giardia*, cinq réplicats d'un échantillon positif faible pour *Cryptosporidium*, et cinq réplicats d'un échantillon négatif pour ces deux parasites a été testé à cinq moments différents par le personnel de deux laboratoires de diagnostic en parasitologie. La reproductibilité intra-essai a montré une concordance de 100% (CV de 0%) parmi tous les échantillons, durant les différentes séries. La reproductibilité inter-essais a montré une concordance de 100% dans les résultats entre les différents moments où le panel a été testé.

Etude des réactions croisées

Le test **ImmunoCard STAT!** *Crypto/Giardia* a été utilisé sur des échantillons de selles connus, positifs pour d'autres parasites selon l'examen microscopique.

La partie du test spécifique de *Giardia* n'a montré aucune réaction croisée avec les organismes suivants:

Le nombre entre parenthèses indique le nombre d'échantillons testés pour chaque organisme.

<i>Ascaris lumbricoides</i> (1)	<i>Entamoeba coli</i> (14)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (13)
<i>Blastocystis hominis</i> (58)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (12)	<i>Microsporidies</i> (1)
<i>Chilomastix mesnili</i> (5)	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (14)	<i>Strongyloides stercoralis</i> (2)
<i>Cryptosporidium parvum</i> (121)	<i>Enterobius vermicularis</i> (1)	<i>Taenia sp.</i> (1)
<i>Cyclospora cayentanensis</i> (1)	<i>Enteromonas hominis</i> (2)	<i>Trichomonas hominis</i> (1)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (14)	<i>Ankylostome</i> (1)	
<i>Endolimax nana</i> (28)	<i>Hymenolepsis nana</i> (3)	

La partie du test spécifique de *Cryptosporidium* n'a montré aucune réaction croisée avec les organismes suivants:

<i>Ascaris lumbricoides</i> (1)	<i>Entamoeba coli</i> (21)	<i>Hymenolepsis nana</i> (4)
<i>Blastocystis hominis</i> (92)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (20)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (12)
<i>Chilomastix mesnili</i> (6)	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (19)	<i>Microsporidies</i> (1)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (1)	<i>Enteromonas hominis</i> (2)	<i>Strongyloides stercoralis</i> (2)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (16)	<i>Giardia lamblia</i> (132)	<i>Taenia sp.</i> (2)
<i>Endolimax nana</i> (48)	<i>Ankylostome</i> (1)	<i>Trichomonas hominis</i> (1)

Le nombre entre parenthèses indique le nombre d'échantillons testés pour chaque organisme.

immunocard STAT!®

Crypto/Giardia Rapid Assay

REF 750830

IVD Rx Only

Un test rápido para la detección cualitativa de antígenos específicos para
Cryptosporidium parvum y *Giardia lamblia*

USO INDICADO

El test **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** es un inmunoensayo rápido para la detección cualitativa de antígenos específicos de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en extractos acuosos de muestras de materia fecal humanos. La prueba está indicada para ayudar a los laboratorios clínicos a hacer un diagnóstico in vitro en infecciones en las que se sospecha la presencia de *Cryptosporidium* o de *Giardia*.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Cryptosporidium y *Giardia* son reconocidos como los dos agentes causales más frecuentes de enfermedad por parasitismo intestinal. Ambos tienen una distribución geográfica global. La transmisión de los mismos por lo general ocurre a través de ingestión de agua o alimentos contaminados.

La *giardiasis* en los humanos es ocasionada por el parásito protozoario *Giardia lamblia* conocido también como *Giardia intestinalis*). La enfermedad aguda está caracterizada por diarrea acuosa, náusea, cólicos abdominales, distensión abdominal por gases, pérdida de peso y síndrome de malabsorción que puede durar varias semanas. La infección crónica o asintomática también puede ocurrir.^{1,2}

La criptosporidiosis humana es ocasionada por un coccidio denominado *Cryptosporidium parvum*. Los síntomas de enfermedad aguda incluyen diarrea acuosa, cólicos abdominales, pérdida del apetito, fiebre baja, náusea y vómito que pueden durar desde varios días hasta más de un mes. En los pacientes inmunocomprometidos pueden ocurrir infecciones severas y persistentes.¹ La infección también puede resultar asintomática. En los EE.UU. este parásito también ha sido implicado en varias epidemias graves asociadas con aguas contaminadas.³

El diagnóstico de las infecciones por *Cryptosporidium* y *Giardia* tradicionalmente se ha hecho por observación microscópica de muestras de materia fecal. Más recientemente, la detección de los antígenos de *Cryptosporidium* y *Giardia* en muestras de materia fecal mediante inmunoensayo enzimático ha ganado aceptación como instrumento diagnóstico.⁴⁻⁶ El test **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** detecta antígenos similares utilizando un formato de inmunoensayo rápido no-enzimático.

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

El test **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** es un ensayo inmunocromatográfico cualitativo que detecta y distingue simultáneamente los antígenos de *Cryptosporidium* y *Giardia* en extractos acuosos de muestras de materia fecal de los pacientes. La muestra recolectada, ya sea en un medio de transporte o un medio para preservación, se añade a un tubo que contiene buffer para tratamiento. Enseguida se añade un anticuerpo de captura biotinilado anti-*Giardia*, y luego un pool de suspensión de anticuerpos monoclonales contra *Giardia* y *Cryptosporidium* marcados con una tinción coloidal. Luego, la muestra se mezcla y se añade al dispositivo de prueba que contiene un reactivo de captura (derivado de la avidina) para *Giardia*, un reactivo de captura para *Cryptosporidium*, y un anticuerpo control que se fija al exceso de conjugado marcado con tinción coloidal. Si el antígeno de *Giardia* se encuentra presente en la muestra, una banda de color gris a negro se hará aparente en la posición marcada GIAR del dispositivo. Del mismo modo, si el antígeno de *Cryptosporidium* está presente en la muestra, una banda de color gris a negro se hará aparente en la posición marcada CRYP. La aparición de una banda negra en la posición marcada CONT es necesaria para que la prueba sea válida, pues indica que el conjugado de tinción coloidal está intacto y que ha habido flujo capilar apropiado.

COMPONENTES Y REACTIVOS DEL KIT

30 Sobres de papel aluminio con dispositivos para pruebas de *Crypto/Giardia* que consisten de: a) Una membrana recubierta con un derivado de la avidina, anti-*Cryptosporidium* murino y anti-IgG murino proveniente de cabra, b) material de almohadilla, desecante y ensamble de plástico.

- (2,8 mL) *Buffer para Tratar la Muestra: Solución tampón con detergente. Advertencia: contiene 0,1% azida.*
- (1,8 mL) *Reactivo de Conjugado A: Anticuerpo de conejo biotinilado anti-Giardia en tampón de dilución con proteína transportadora y detergente. Advertencia: contiene < 0,1% azida.*
- (1,8 mL) *Reactivo de Conjugado B: Anticuerpos monoclonales contra Crypto/Giardia marcados con tinción coloidal en tampón de dilución con proteína transportadora y detergente. Advertencia: contiene < 0,1% azida.*
- (1 bolsa) *Contiene 30 Pipetas para Transferencia de Muestras*
- (1 bolsa) *Contiene 30 Tubos de Dilución para Muestras*

PRECAUCIONES

1. Utilice todos los reactivos sólo para uso diagnóstico in vitro.
2. No utilice el kit después de la fecha de expiración impresa en el mismo.
3. Maneje todas las muestras de los pacientes como si estas fueran capaces de transmitir enfermedades infecciosas. Deséchelas apropiadamente. Para transportarlas, hágalo teniendo en cuenta los reglamentos federales relacionados con el transporte de agentes infecciosos.
4. **ADVERTENCIA:** las soluciones del Buffer para Tratar la Muestra, el Conjugado Reactivo A y Conjugado Reactivo B contienen azida de sodio. La azida de sodio puede reaccionar con las tuberías de plomo o de cobre formando compuestos de azidas explosivos. Enjuague los desagües con cantidades copiosas de agua, durante el momento en que se desechan estos reactivos.
5. No deben intercambiarse reactivos provenientes de distintos lotes de kit.

DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

No se conoce ningún riesgo asociado con este producto.

ALMACENAMIENTO

Almacénese el kit a temperatura de refrigeración entre 2-8 C (36-46 F) y devuelva prontamente el equipo a la nevera después de cada uso. **NO LO CONGELE.**

RECOLECCIÓN Y MANEJO DE LA MUESTRA

Las muestras de materia fecal que han sido recolectadas para determinar huevos y parásitos (coprológico) pueden utilizarse para realizar la prueba *Crypto/Giardia*. Las muestras deben recogerse en recipientes plásticos limpios y con cierre hermético.

Las muestras preferidas para esta prueba son las recolectadas en medios de transporte como SAF, formalina al 10%, MIF, Cary-Blair, C&S o Stuart's. Se recomienda que las muestras recolectadas en solución fijadora MIF se evalúen antes de agregarles yodo. Las muestras recolectadas en PVA no son apropiadas para realizar esta prueba.

Muestras frescas (sin preservar)

Las muestras líquidas, semisólidas y sólidas son aceptables pero deben diluirse 1:4 en un medio de transporte aceptable antes de realizar la prueba. Si no hay un medio de transporte disponible, puede emplear agua destilada o desionizada en su lugar. Para los casos de muestras sólidas o semisólidas, mezcle la muestra utilizando un aplicador de madera o similar antes de realizar la dilución.

Para diluir 1:4:

- Remueva aproximadamente 1 mL de muestra y coloque en 3 mL de medio de transporte.
- Mezcle bien y continúe con la prueba.

Los medios **Cary-Blair**, **C&S** (medio para cultivo y antibiograma), y **MIF** pueden interferir con ciertos métodos de pruebas confirmatorias. Se recomienda el uso de medios de transporte alternos para las muestras en base a la prueba confirmatoria. Al igual que con cualquier método de prueba, antes de su uso debe revisarse la literatura del producto, en cuanto a las afirmaciones y limitaciones acerca del rendimiento. Muestras frescas y muestras en medio de Stuart deben ser analizadas lo más pronto posible. Las condiciones de almacenaje extendidas no se han validado.

Las muestras preservadas con Formalina o SAF pueden almacenarse congeladas (-20 o -70 C), refrigeradas (2-8 C) o a temperatura ambiente (20-30 C) pero deben ser analizadas en un término de dos meses después de haber sido recogidas.	Las muestras diluidas en medio de transporte de Cary-Blair o C&S pueden almacenarse refrigeradas (2-8 C) y ser analizadas dentro de dos semanas después de haber sido recogidas, o pueden almacenarse congeladas (-20 C) y analizarse dentro de dos meses.	Las muestras preservadas con solución MIF pueden almacenarse congeladas (-20 C), refrigeradas (2-8 C) o a temperatura ambiente (20-30 C) pero deben ser analizadas en un término de dos meses después de haber sido recogidas.
---	--	--

CONTROL DE CALIDAD

Existen ciertas características que han sido incorporadas al test de *Crypto/Giardia* que sirven para hacer verificaciones de rutina respecto de la calidad del mismo:

1. La aparición de una banda en la posición de Control verifica el buen funcionamiento del conjugado con tinción coloidal que ha sido añadido al dispositivo; además, que el anticuerpo de la línea de control funciona bien y que ha ocurrido un flujo capilar apropiado.
2. La secuencia de la adición de reactivos al Tubo de Dilución para Muestras permite que el usuario monitoree el procedimiento visualmente: El Buffer para Tratar la Muestra se añade a un tubo vacío; la muestra de materia fecal está visible; el Reactivo Conjugado A tiene un colorante de color rojo incorporado; el Reactivo Conjugado B en cambio es de color negro.
3. Los requisitos de control de calidad deben establecerse de acuerdo con las pautas federales, estatales y locales o según los requisitos de las agencias acreditadoras. Meridian Bioscience recomienda que como mínimo se realicen controles externos positivos y negativos para cada lote nuevo y con cada técnico nuevo no capacitado.

MATERIALES PROPORCIONADOS

Cada kit de test **ImmunoCard STAT!** *Crypto/Giardia* contiene materiales para realizar 30 pruebas:

Dispositivos para pruebas empacados (30)	Buffer para Tratar las Muestras (2,8 mL)
Reactivo Conjugado A (1,8 mL)	Reactivo Conjugado B (1,8 mL)
Tubos para diluir la muestra (30)	Pipetas para transferencia de muestras (30)
Tarjeta con procedimiento	Prospecto del paquete

MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

Recipientes para recoger la muestra y medios de transporte. SAF (900212), Formalina 10% (900412), C&S (900612), Cary-Blair, MIF.

Reloj o cronómetro.

NOTAS PARA EL PROCEDIMIENTO

1. Permita que el equipo y las muestras se equilibren a temperatura ambiente antes de usar. Mezcle los reactivos líquidos invirtiéndolos varias veces antes de usar. Devuelva el equipo prontamente a la nevera **después de cada uso**.
2. No saque los dispositivos de prueba de sus bolsas si no está listo para utilizarlos.
3. Es posible correr varias muestras a un mismo tiempo. En este caso, utilice un tubo de dilución y una pipeta de transferencia por cada muestra que va a ser examinada.
4. Con el objeto de prevenir una posible contaminación: evite tocar la punta dispensadora de la solución Buffer para Tratar las Muestras, rozar los tubos para diluir las muestras con los goteros de los reactivos de Conjugado A y Conjugado B, tocar las pipetas, dispositivos para pruebas o cualquier otro elemento que haya entrado en contacto directo con las muestras de los pacientes.
5. Para minimizar la pérdida de reactivo y controlar mejor el tamaño de las gotas que se liberan del vial de reactivo, se sugiere realizar los siguientes pasos:
 - Almacene los viales de reactivo en posición vertical.
 - Luego de quitar la tapa, limpie la punta cuidadosamente con un paño de laboratorio y asegúrese de retirar todo el líquido.
 - Sujete los viales en posición casi vertical para dispensar reactivo. Si está realizando la prueba en varias muestras a la vez, deje que entre aire en el vial antes de dispensar gotas en la siguiente muestra.
 - Si en algún momento observa líquido en la punta, límpiela con un paño de laboratorio antes de continuar dispensando gotas.
 - No agite los reactivos vigorosamente ni utilice un agitador mecánico (vórtex).

- No concentre las muestras de los pacientes. Al tomar la muestra utilice la parte líquida de la misma. Se recomienda dejar sedimentar las partículas sólidas para que la muestra pueda tomarse fácilmente con pipeta.
- Todas las muestras frescas o sin preservar, incluyendo muestras líquidas, deben ser diluidas 1:4 en uno de los medios de transporte antes de correr esta prueba (Vea sección "RECOLECCIÓN Y MANEJO DE LA MUESTRA").
- La secuencia del agregado de reactivos al tubo con la muestra permite al usuario controlar visualmente el procedimiento: el Buffer para Tratar las Muestras se agrega a un tubo vacío; la muestra de materia fecal se observa visualmente; el Reactivo Conjugado A tiene un colorante rojo incorporado y el Reactivo Conjugado B es de color negro.

PROCEDIMIENTO

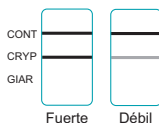
- Remueva el dispositivo de la prueba del paquete y colóquelo sobre una superficie plana; coloque un Tubo para Diluir la Muestra dentro del receptáculo de la estación de trabajo del kit o en una gradilla apropiada.
- Añada dos gotas de Buffer para Tratar las Muestras al Tubo para Diluir la Muestra.
- Use las pipetas de transferencia para aspirar las muestras acuosas: apriete la bomba, introduzca la parte abierta en la muestra y aspire hasta que se llene el cuerpo de la pipeta. Extraiga la muestra hasta la línea de calibración de 60 µL. Transfiera el contenido del interior de la pipeta al Tubo para Diluir la Muestra. **NOTA: Todas las muestras frescas o sin preservar, incluyendo muestras líquidas, deben ser diluidas 1:4 en uno de los medios de transporte antes de correr esta prueba. Si no hay disponible un medio de transporte, puede utilizarse agua destilada o desionizada.**
- Mezcle e invierta el Reactivo Conjugado A. Añada dos (2) gotas de Reactivo Conjugado A al tubo con la muestra.
- Mezcle e invierta el Reactivo Conjugado B. Añada dos (2) gotas de Reactivo Conjugado B al tubo con la muestra.
- Mezcle la muestra agitando manualmente el tubo o mecánicamente con un vórtex. Dispense el contenido del tubo en su totalidad dentro del puerto para la muestra en el dispositivo para prueba.
- Después de diez (10) minutos, lea los resultados a la luz visible. Los resultados **después de 15 minutos** no se consideran válidos.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Nota: Sólo las líneas visibles de la prueba en cualquier tono de gris o negro deben interpretarse como positivas. Las líneas en tonos de amarillo o marrón no deben considerarse positivas sino como prueba inválida.

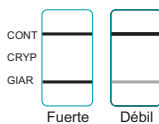
Positivo para *Cryptosporidium*

La presencia de bandas de color gris a negro son visibles en las posiciones de CRYP y CONT, indicando que el antígeno de *Cryptosporidium* ha sido detectado. Las líneas visibles de la prueba, en tonos de gris a negro solamente, deben interpretarse como positivas. La intensidad de las bandas de color gris a negro puede variar de tenue ("weak") a fuerte ("strong"). No hay una correlación directa entre la intensidad de la línea de la prueba y la gravedad de la infección.



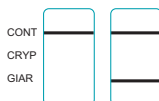
Positivo para *Giardia*

La presencia de bandas de color gris a negro son visibles en las posiciones de GIAR y CONT, indicando que el antígeno de *Giardia* ha sido detectado. Las líneas visibles de la prueba, en tonos de gris a negro solamente, deben interpretarse como positivas. La intensidad de las bandas de color gris a negro puede variar de tenue ("weak") a fuerte ("strong"). No hay una correlación directa entre la intensidad de la línea de la prueba y la gravedad de la infección.



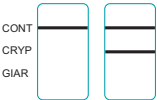
Negativo para *Cryptosporidium*

No hay ninguna banda visible en la posición CRYP pero hay banda presente visible de color gris a negro en la posición CONT lo cual indica que el antígeno de *Cryptosporidium* no está presente, o que lo está en cantidades por debajo de los niveles detectables por la prueba. En la posición GIAR, la banda de color gris a negro puede estar presente o ausente.



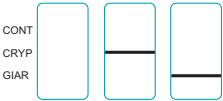
Negativo para *Giardia*

No hay ninguna banda visible en la posición GIAR pero hay banda presente visible de color gris a negro en la posición CONT, lo cual indica que el antígeno de *Giardia* no está presente, o que lo está en cantidades por debajo de los niveles detectables por la prueba. En la posición CRYP, la banda de color gris a negro puede estar presente o ausente.



Resultados inválidos de la prueba

La ausencia de banda en la posición CONT o la presencia de bandas incompletas o en forma de collar de cuentas en las posiciones CRYP o GIAR, indican que el resultado es inválido. En aquellas situaciones en que no haya un flujo adecuado debido a la presencia excesiva de partículas sólidas en la muestra, se puede hacer una dilución doble en agua desionizada o en el mismo medio de transporte en el que la muestra original fue recogida, y después volverse a correr. La prueba deberá repetirse utilizando otro dispositivo. **Las líneas de color distinto del gris o negro no deben considerarse válidas.** Repita la prueba utilizando un método alternativo o una muestra diferente. Si se emplea un método alternativo, verifique que la fecha de recolección de la muestra y el conservante utilizado sean adecuados (consulte 'Recolección y manejo de la muestra').



LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- 1. Como en cualquier otro procedimiento diagnóstico, los resultados obtenidos con el test **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** deben ser interpretados teniendo en cuenta la información clínica adicional que tiene disponible el médico.
- 2. Es posible que en muestras que contengan niveles de anticuerpo que estén por debajo de los límites de detección de la prueba se obtengan resultados negativos. Se pueden obtener muestras seriadas (recolectadas en días distintos) en aquellos pacientes en quienes se sospecha que el resultado del test sea positivo para *Giardia* o para *Cryptosporidium*.
- 3. La prueba está diseñada para emplearse con muestras de material fecal recogidas en un medio de transporte aceptable. El uso de lavados del colon, aspirados u otros tipos de muestras diluidas no se ha validado y puede interferir con el funcionamiento del ensayo. Las muestras de materia fecal contaminadas con productos a base de aceite o partículas pequeñas (por ej., bario, aceite mineral, etc.) no se recomiendan ya que dichos productos pueden interferir en la prueba.

VALORES ESPERADOS

La prevalencia de *Cryptosporidium* o de *Giardia* varía de acuerdo con las distintas poblaciones y regiones geográficas. La incidencia de *Giardia* en los países desarrollados equivale aproximadamente a un 2-5%; la incidencia de *Cryptosporidium* en Europa y América del Norte es de 1-3%.³ Tasas de prevalencia más elevadas pueden estar presentes en los niños y los pacientes inmunocomprometidos.¹⁻³

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Sensibilidad y especificidad

El test **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia** fue evaluado en varios centros clínicos a manera retrospectiva y prospectiva. Los resultados de la prueba *Crypto/Giardia* fueron comparados con los obtenidos por medio del examen microscópico directo para la determinación de huevos y parásitos.

Para el estudio retrospectivo se empleó un panel previamente caracterizado de muestras de pacientes preservadas con formalina. La prueba fue comparada con los resultados del examen microscópico que incluyó la tinción estándar de huevos y parásitos de *Giardia* y de otros parásitos, y la tinción ácido-alcohol resistente modificada para *Cryptosporidium*.

En caso de que se encontraran discrepancias al comparar ambos tipos de pruebas, se realizaría una tinción de inmunofluorescencia específica para *Crypto/Giardia*.

Resultados para <i>Cryptosporidium</i> :		Resultados para <i>Cryptosporidium</i> en el test ImmunoCard STAT!	
		+	-
Examen microscópico para <i>Cryptosporidium</i>	+	36	1
	-	0	105

Sensibilidad 36/37 = 97,3% (Intervalo de Confianza, IC del 95%: 85,8 – 100%)

Especificidad 105/105 = 100,0% (Intervalo de Confianza, IC del 95%: 96,6 – 100%)

La muestra discrepante fue verificada como positiva para *Cryptosporidium* por medio de la técnica de inmunofluorescencia; ésta probablemente contenía un nivel de anticuerpo por debajo del límite de detección de la prueba.

Resultados para <i>Cryptosporidium</i> :		Resultados para <i>Cryptosporidium</i> en el test ImmunoCard STAT!	
		+	-
Prueba de EIA rapida para <i>Cryptosporidium</i>	+	36	0
	-	0	106

Concordancia Relativa* entre **ImmunoCard STAT!** y el test de inmunoensayo rápido (EIA) para *Cryptosporidium*: 142/142 = 100%

* Nota: por favor tenga en cuenta que el término "relativo" se refiere a la comparación entre los resultados de esta prueba con aquellos de otra prueba similar. No se intentó hacer una correlación entre los resultados de la prueba con la presencia o ausencia de enfermedad. Por lo tanto, no se puede hacer ningún juicio sobre la precisión de la prueba para predecir la presencia de enfermedad.

Resultados para <i>Giardia</i> :		Resultados para <i>Giardia</i> en el test ImmunoCard STAT!	
		+	-
Examen microscópico para <i>Giardia</i>	+	33	0
	-	0	109

Sensibilidad 33/33 = 100,0% (Intervalo de Confianza, IC del 95%: 89,4 – 100%)

Especificidad 109/109 = 100,0% (Intervalo de Confianza, IC del 95%: 96,7 – 100%)

Resultados para <i>Giardia</i> :		Resultados para <i>Giardia</i> en el test ImmunoCard STAT!	
		+	-
Prueba de EIA rapida para <i>Giardia</i>	+	29	0
	-	4	109

Las cuatro muestras discrepantes tuvieron un resultado positivo en el examen microscópico para *Giardia*.

Concordancia Relativa* entre el ensayo y el test de inmunoensayo rápido (EIA) para *Giardia*:

138/142 = 97,2%

* Nota: por favor tenga en cuenta que el término "relativo" se refiere a la comparación entre los resultados de esta prueba con aquellos de otra prueba similar. No se intentó hacer una correlación entre los resultados de la prueba con la presencia o ausencia de enfermedad. Por lo tanto, no se puede hacer ningún juicio sobre la precisión de la prueba para predecir la presencia de enfermedad.

El estudio prospectivo se realizó con muestras que fueron caracterizadas en tres lugares clínicos pertenecientes a zonas geográficas de los EE.UU., que quedaban separadas entre sí. Un total de 502 muestras fueron analizadas utilizando el test rápido para *Cryptosporidium* y *Giardia*. Los resultados fueron comparados con exámenes microscópicos para determinar la presencia de huevos y parásitos en conjunto con una tinción ácidoalcohol resistente modificada para *Cryptosporidium*.

Resultados para <i>Cryptosporidium</i> :		Resultados para <i>Cryptosporidium</i> en el test ImmunoCard STAT!	
		+	-
Examen microscópico para <i>Cryptosporidium</i>	+	73	0
	-	2	427

Sensibilidad 73/73 = 100,0% (Intervalo de Confianza, IC del 95%: 95,1 – 100%)

Especificidad 427/429 = 99,5% (Intervalo de Confianza, IC del 95%: 98,3 – 99,9%)

En los datos anteriores hubo dos falsos positivos para *Cryptosporidium* que no fueron positivos en realidad. Estas muestras provinieron de dos pacientes en los cuales no pudo documentarse la presencia de *Cryptosporidium* al repetir los exámenes microscópicos.

Resultados para *Giardia*:

Resultados para <i>Giardia</i> en el test ImmunoCard STAT!	
+	-
Examen microscópico para <i>Giardia</i>	
+	50
-	448

Sensibilidad 50/50 = 100,0% (Intervalo de Confianza, IC del 95%:92,9 – 100%)

Especificidad 448 /452 = 99,1% (Intervalo de Confianza, IC del 95%:97,8 – 99,8%)

En los datos anteriores se encontraron cuatro falsos positivos en el test **ImmunoCard STAT!** para *Crypto/ Giardia* que no fueron falsos positivos en realidad. El análisis de las discrepancias demostró que todas las muestras provenían de pacientes que dieron resultado positivo para *Giardia* al hacer un análisis microscópico de una muestra diferente.

Reproducibilidad de la prueba

Un panel de 15 muestras que consistían de cinco réplicas de una muestra con un nivel positivo bajo para *Giardia*, cinco réplicas de una muestra con un nivel positivo bajo para *Cryptosporidium* y cinco réplicas de una muestra negativa fueron corridas en cinco ocasiones distintas por el personal de dos laboratorios diagnósticos de parasitología. La reproducibilidad dentro de la misma prueba se demostró por una concordancia del 100% (Coeficiente de Variación, CV de 0%) entre todas las réplicas de las muestras que se analizaron en una misma corrida. La reproducibilidad entre prueba y prueba fue demostrada por una concordancia del 100% en los resultados obtenidos durante las diez ocasiones separadas en que el panel de pruebas fue corrido.

Reactividad Cruzada

La prueba de *Cryptosporidium* y *Giardia* se corrió con muestras de materia fecal que habían sido documentadas como positivas para la presencia de otros parásitos en el examen microscópico.

La parte del test específica para *Giardia* no demostró reactividad cruzada a la presencia de los siguientes organismos:

<i>Ascaris lumbricoides</i> (1)	<i>Entamoeba coli</i> (14)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (13)
<i>Blastocystis hominis</i> (58)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (12)	<i>Microsporidia</i> (1)
<i>Chilomastix mesnili</i> (5)	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (14)	<i>Strongyloides stercoralis</i> (2)
<i>Cryptosporidium parvum</i> (121)	<i>Enterobius vermicularis</i> (1)	<i>Taenia sp.</i> (1)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (1)	<i>Enteromonas hominis</i> (2)	<i>Trichomonas hominis</i> (1)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (14)	Hookworm (1)	
<i>Endolimax nana</i> (28)	<i>Hymenolepis nana</i> (3)	

Los números entre paréntesis representan el número de muestras que fueron analizadas por cada organismo.

La parte del test específica para *Cryptosporidium* no demostró reactividad cruzada a la presencia de los siguientes organismos:

<i>Ascaris lumbricoides</i> (1)	<i>Entamoeba coli</i> (21)	<i>Hymenolepis nana</i> (4)
<i>Blastocystis hominis</i> (92)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (20)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (12)
<i>Chilomastix mesnili</i> (6)	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (19)	<i>Microsporidia</i> (1)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (1)	<i>Enteromonas hominis</i> (2)	<i>Strongyloides stercoralis</i> (2)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (16)	<i>Giardia lamblia</i> (132)	<i>Taenia sp.</i> (2)
<i>Endolimax nana</i> (48)	Hookworm (1)	<i>Trichomonas hominis</i> (1)

Los números entre paréntesis representan el número de muestras que fueron analizadas por cada organismo.

immunocard STAT!

Crypto/Giardia Rapid Assay

REF 750830

IVD Rx Only

Zum qualitativen Nachweis von *Cryptosporidium parvum*- und *Giardia lamblia*-spezifischen Antigenen

VERWENDUNGSZWECK

Der **ImmunoCard STAT!** *Crypto/Giardia* Test ist ein Immunschnelltest zum qualitativen Nachweis von *Cryptosporidium parvum* und *Giardia lamblia* spezifischen Antigenen in wässrigen Extrakten menschlicher Stuhlproben. Er ist zur in-vitro-Diagnose in professionellen Labors als Hilfe beim Nachweis eines *Cryptosporidium*- oder *Giardia*-Infektionsverdachts bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Cryptosporidium und *Giardia* sind anerkanntermaßen zwei der häufigsten Ursachen von parasitären Darmerkrankungen. Beide Organismen treten überall auf der Welt auf. Die Übertragung erfolgt gewöhnlich über die Aufnahme von kontaminierter Nahrung oder Wasser.

Giardiasis wird beim Menschen durch den Protozoenparasiten *Giardia lamblia* (auch als *Giardia intestinalis* bekannt) hervorgerufen. Die akute Erkrankung ist charakterisiert durch wässrigen Durchfall, Übelkeit, Unterleibskrämpfe, Blähungen, Gewichtsverlust und Malabsorption über einige Wochen. Chronische oder asymptomatische Infektionen können auch auftreten.^{1,2}

Cryptosporidiosis wird beim Menschen durch den Kokzidienparasiten *Cryptosporidium parvum* hervorgerufen. Akute Symptome sind u. a. wässriger Durchfall, Unterleibskrämpfe, Appetitlosigkeit, niedriges Fieber, Übelkeit und Erbrechen von einigen Tagen bis zu über einem Monat. Schwere anhaltende Infektionen können bei immungeschwächten Patienten auftreten.¹ Die Infektion kann auch asymptomatisch verlaufen. Der Parasit wurde mit einigen schweren trinkwasserbedingten Epidemien in den Vereinigten Staaten in Zusammenhang gebracht.³

Die Diagnose von *Cryptosporidium* und *Giardia*-Infektionen erfolgte herkömmlicherweise durch mikroskopische Stuhluntersuchungen. Seit kurzem ist der Nachweis von *Giardia* und *Cryptosporidium* Antigenen in Stuhlproben durch enzymatische Immuntests ein akzeptierter Ansatz zur Diagnose.⁴⁻⁶ **ImmunoCard STAT!** *Crypto/Giardia*-Test weist ähnliche Antigene nach und verwendet ein nichtenzymatisches Immunschnelltestformat.

VERFAHRENSPRINZIP

Der **ImmunoCard STAT!** *Crypto/Giardia* Test ist ein qualitativer chromatographischer Immuntest zur gleichzeitigen Ermittlung und Unterscheidung von *Giardia* und *Cryptosporidium* Antigenen in wässrigen Stuhlextrakten des Patienten. Die Probe, die in einem Transport- oder Konservierungsmedium gesammelt wird, wird mit einer Pufferlösung in ein Reagenzglas gegeben. Ein biotinylierter Anti-*Giardia*-Erfassungsantikörper wird hinzugegeben und anschließend wird eine gepoolte Suspension von Kolloidfarbstoff-markierten, monoklonalen *Giardia* und *Cryptosporidium*-Antikörpern zugesetzt. Die Probe wird dann gemischt und in die Testvorrichtung gegossen, die ein Einfangreagenzmittel (ein Avidin-Derivat) für *Giardia*, ein Einfangantikörper für *Cryptosporidium* und einen Kontrollantikörper enthält, der sich an das Überschusskonjugat des Kolloidfarbstoffs bindet. Wenn ein *Giardia*-Antigen in der Probe enthalten ist, entwickelt sich eine schwarze grauschwarze Linie an der GIAR-Position im Fenster der Vorrichtung. Wenn ein *Cryptosporidium*-Antigen in der Probe vorhanden ist, entwickelt sich eine schwarze grauschwarze Linie an der CRYP-Position im Fenster der Vorrichtung. Es muss eine schwarze Linie an der CONT-Position erscheinen, damit die Testergebnisse als gültig angesehen werden können. Dadurch wird angezeigt, dass das Kolloidfarbstoff-Konjugat intakt ist und ein korrekter Kapillarfluss stattgefunden hat.

BESTANDTEILE UND REAGENZIEN DES KITS

Folienverpackte *Crypt/Giardia*-Testvorrichtungen, bestehend aus: a) einer mit einem Avidin-Derivat, Maus-Anti-*Cryptosporidium*-Antikörper und Ziegen-Anti-Maus-IgG-Antikörper beschichteten Membran, b) Absorptionsmaterial, Trockenmittel und ein Plastikgehäuse (30 Stück pro Kit).

- (2,8 mL) *Proben-Aufbereitungspuffer: Pufferlösung mit Reinigungsmittel. WARNUNG: Enthält 0,1% Natriumazid.*
- (1,8 mL) *Konjugat-Reagenz A: Biotinylierte Kaninchen-Anti-Giardia-Antikörper in Verdünnungspuffer mit Transportprotein und Reinigungsmittel. WARNUNG: Enthält < 0,1% Natriumazid.*
- (1,8 mL) *Konjugat-Reagenz B: Kolloidfarbstoff-markierte, monoklonale Cryptosporidium-/Giardia-Antikörper in Verdünnungspuffer mit Transportprotein und Reinigungsmittel. WARNUNG: Enthält < 0,1% Natriumazid*
- (1 Beutel mit 30 Stück) *Proben-Transferpipetten*
- (1 Beutel mit 30 Stück) *Proben-Verdünnungsröhrchen*

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Zur Verwendung in In-vitro-Diagnosen.
2. Verwenden Sie den Kit nicht nach dem aufgedruckten Verfallsdatum.
3. Handhaben Sie alle Patientenproben, als ob sie Infektionskrankheiten übertragen könnten. Beseitigen Sie sie ordnungsgemäß. Versenden Sie die Proben in Übereinstimmung mit den staatlichen Verordnungen über den Transport infektiöser Wirkstoffe.
4. **WARNUNG:** Die Proben-Aufbereitungspuffer-, Konjugat-Reagenz A- und Konjugat-Reagenz B-Lösungen enthalten Natriumazid. Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferrohren reagieren und explosive metallische Azidverbindungen bilden. Spülen Sie beseitigte Lösungen mit sehr viel Wasser fort.
5. Tauschen oder mischen Sie Bestandteile aus verschiedenen Kits nicht.

GEFÄHRDUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE

Es gibt keine bekannten Gefahren die mit diesem Produkt verbunden sind.

LAGERUNG

Lagern Sie den Kit gekühlt bei 2 C bis 8 C (36 F bis 46 F) und den Kit nach Benutzung sofort wieder in den Kühlschrank stellen. **NICHT EINFRIEREN!**

PROBENENTNAHME UND HANDHABUNG

Stuhlproben, die zur Untersuchung auf Oozyten und Parasiten entnommen wurden, können im Rahmen des *Cryptosporidium-I Giardia*-Tests verwendet werden. Die Proben sollten in sauberen, dichten Plastikbehältern gesammelt werden.

Für Probennahme, Transport und Test werden Proben in SAF, 10% Formalin, MIF, Cary-Blair, C&S oder Stuart-Transportmedium bevorzugt. Es wird empfohlen, dass Proben in MIF-Fixiermittel vor der Zugabe von Iod untersucht werden. Proben in PVA sind nicht geeignet.

Frische (nicht konservierte) Proben

Feste, halbfeste oder flüssige Proben können verwendet werden, müssen aber vor dem Test 1:4 in einem geeigneten Transportmedium verdünnt werden. Wenn kein Transportmedium zur Verfügung steht, kann destilliertes oder deionisiertes Wasser verwendet werden. Feste und halbfeste Proben werden vor dem Verdünnen mit einem Holzstäbchen oder dgl. gemischt.

Eine 1:4 Verdünnung herstellen:

- Das Äquivalent zu 1 mL vermischter Stuhlprobe mit 3 mL Transportmedium verdünnen.
- Gründlich mischen und den Test fortsetzen.

Die Transportmedien **Cary-Blair**, **C&S** und **MIF** können manche Testmethoden zur Bestätigung der Ergebnisse beeinträchtigen. Für bestätigende Tests werden andere Transportmedien für Patientenproben empfohlen. Wie für alle Testmethoden, müssen vor der Verwendung die Informationen zu den Leistungen und Einschränkungen des Produkts durchgelesen werden. **Frisch entnommene Proben und Proben in Stuart-Transportmedium** sobald wie möglich nach der Entnahme verarbeiten. Ob bei längerer Aufbewahrung Einfluss bestünde, wurde nicht eruiert.

Formalin- und SAF-konservierte Proben können gefroren (-20 C oder -70 C), gekühlt (2 C bis 8 C) oder bei Raumtemperatur (20 C bis 30 C) aufbewahrt werden und sollten innerhalb von zwei Monaten nach Entnahme bearbeitet werden.	Mit Cary-Blair oder C&S verdünnte Proben können gekühlt (2 C bis 8 C) aufbewahrt werden und sollten innerhalb von zwei Wochen nach Entnahme bearbeitet werden, oder sie können gefroren (-20 C) und innerhalb von zwei Monaten bearbeitet werden.	MIF-konservierte Proben können gefroren (20 C), gekühlt (2 C bis 8 C) oder bei Raumtemperatur (20 C bis 30 C) aufbewahrt werden und sollten innerhalb von zwei Monaten nach Entnahme bearbeitet werden.
---	---	---

QUALITÄTSKONTROLLE

Verschiedene Eigenschaften wurden in den *Crypto/Giardia*-Test zur routinemäßigen Qualitätsprüfung eingebaut:

1. Das Erscheinen einer Kontrolllinie an der Kontrollposition verifiziert, dass ein funktionell intaktes Kolloidfarbstoff-Konjugat zur Vorrichtung gegeben wurde, dass die Kontrollzeilen-Antikörper funktionell aktiv sind und dass ein angemessener Kapillarfluss stattgefunden hat.
2. Charakterisierte formalin-konservierte Patientenproben können als positive und negative externe Kontrollen benutzt werden. Diese Proben sollten gleichermaßen getestet werden als Testproben wie unterhalb beschrieben.
3. Die Anforderungen an Qualitätskontrollen müssen gemäß den örtlichen, landesweiten und staatlichen Bestimmungen sowie Zulassungsvorgaben festgelegt werden. Meridian Bioscience empfiehlt, mindestens für jede neue Charge und mit jedem neuen ungeschulten Anwender positive und negative externe Kontrollen durchzuführen.

LIEFERUMFANG

Jeder **ImmunoCard STAT!** *Crypto/Giardia*-Testkit enthält Materialien für 30 Tests:

In Beuteln verpackte Testvorrichtungen (30 Stück)	Proben-Aufbereitungspuffer (2,8 mL)
Konjugat-Reagenz A (1,8 mL)	Konjugat-Reagenz B (1,8 mL)
Proben-Verdünnungsröhrchen (30 Stück)	Proben-Transferpipetten (30 Stück)
Verfahrenskarte	Packungsbeilage

NOTWENDIGE MATERIALIEN, DIE NICHT IM LIEFERUMFANG INBEGRIFFEN SIND

Vorrichtungen zu Probenentnahme und -transport. SAF (900212), 10%iges Formalin (900412), C&S (900612), Cary-Blair, MIF.

Uhr oder Stoppuhr.

VERFAHRENSHINWEISE

1. Lassen Sie die Bestandteile des Kits und die Proben Raumtemperatur annehmen. Die flüssigen Reagenzien vor Gebrauch durch schwenken mischen. Den Kit nach Benutzung sofort wieder in den Kühlschrank stellen.
2. Nehmen Sie die Testvorrichtungen nicht aus der Verpackung, bevor Sie zu deren Verwendung bereit sind.
3. Es können mehrere Test zur gleichen Zeit durchgeführt werden. Verwenden Sie getrennte Verdünnungsröhrchen und Pipetten für jede Probe.
4. Um eine mögliche Kontaminierung zu verhindern, vermeiden Sie, die Spitze der Proben-Aufbereitungspuffer, Konjugat-Reagenz A -und Konjugat-Reagenz B Tropflaschen mit den Verdünnungsröhrchen, Pipetten, Testvorrichtungen oder jeglichem Gegenstand zu berühren, der in direkten Kontakt mit den Proben des Patienten gekommen ist.
5. Um den Reagenzienverbrauch zu verringern und die Tropfengröße aus den Reagenzienflaschen besser kontrollieren zu können, sollten folgende Schritte beachtet werden:
 - Reagenzienflaschen aufrecht lagern.
 - Nach Abnahme des Deckels Öffnung mit einem Labortuch gründlich abwischen und sicherstellen, dass alle Flüssigkeit entfernt wird.
 - Zum Tropfen sind die Flaschen fast senkrecht zu halten. Wenn mehrere Proben bearbeitet werden, vor der Tropfenentnahme für den nächsten Test zunächst Luft in die Flasche eindringen lassen.
 - Sollte Flüssigkeit an der Öffnung beobachtet werden, ist diese vor der weiteren Tropfenentnahme mit einem Labortuch abzuwischen.
 - Die Reagenzien dürfen nicht stark geschüttelt oder gevortext werden.
6. Die Patienten Proben nicht konzentrieren. Bei der Probenentnahme den flüssigen Teil der Probe verwenden. Es wird empfohlen, zu warten, bis sich die festen Bestandteile abgesetzt haben, damit die Probe leichter pipettiert werden kann.
7. Alle frischen und nicht konservierten Stuhlproben, inklusive der flüssigen Stuhlproben, müssen ungefähr 1:4 in einem akzeptablen Transportmedium verdünnt werden, bevor sie in dem Test eingesetzt werden können (siehe Handhabung und Vorbereitung der Proben).
8. Anhand der Reihenfolge der Reagenzienzugabe in das Probenröhrchen kann der Anwender das Verfahren optisch überwachen: Der Proben-Aufbereitungspuffer wird in ein leeres Röhrchen gegeben; die Stuhlprobe ist sehbar; Konjugat-Reagenz A ist rotgefärbt und Konjugat-Reagenz B ist schwarz.

VERFAHREN DES TESTS

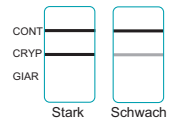
1. Entnehmen Sie die Testvorrichtung aus dem Beutel und stellen Sie sie auf eine flache Oberfläche. Platzieren Sie ein Proben-Verdünnungsröhrchen in einem Kit-Arbeitsstationsgestell oder ein angemessenes Reagenzglasgestell.
2. Geben Sie zwei Tropfen des Probenaufbereitungspuffers in das Proben-Verdünnungsröhrchen.
3. Die Spitze der mitgelieferten Transferpipette in die wässrige Stuhlprobe des Patienten eintauchen und den oberen Saugball fest zusammendrücken. Den oberen Saugball langsam loslassen, um die Flüssigkeit in die Pipette zu ziehen. Die Probe bis zur Kalibrierungsmarkierung bei 60 µL aufziehen. Den Inhalt der Pipette in das Probenverdünnungsröhrchen geben. **Achtung: Alle frischen und nicht konservierten Stuhlproben, inklusive der flüssigen Stuhlproben, müssen ungefähr 1:4 in einem akzeptablen Transportmedium verdünnt werden, bevor sie in dem Test eingesetzt werden können (siehe Handhabung und Vorbereitung der Proben). Wenn kein Transportmedium zur Verfügung steht, kann destilliertes oder deionisiertes Wasser verwendet werden.**
4. Mischen oder schwenken Sie Konjugat-Reagenz A. Geben Sie zwei Tropfen Konjugat A in das Röhrchen.
5. Mischen oder schwenken Sie Konjugat-Reagenz B. Geben Sie zwei Tropfen Konjugat B in das Röhrchen.
6. Mischen Sie die Probe durch manuelles schütteln oder vortexen. Gießen Sie den gesamten Inhalt des Probenverdünnungsröhrchens in die Probenmulde der Testvorrichtung.
7. Lesen Sie die Testergebnisse nach zehn Minuten ab. Nach 15 Minuten sind die Testergebnisse ungültig.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Hinweis: Sichtbare Testlinien, die nur in Grau oder Schwarz aller Schattierungen auftreten, müssen als positiv gelesen werden. Testlinien in Gelb- oder Braunschattierungen dürfen nicht als positiv gelesen werden, sondern müssen als ungültige Ergebnisse angesehen werden.

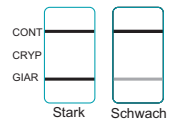
Cryptosporidium-positiv

Sichtbare grauschwarze Linien an den Positionen CRYP und CONT zeigen an, dass das *Cryptosporidium*-Antigen nachgewiesen wurde. Sichtbare Testlinien, die nur in Grau oder Schwarz aller Schattierungen auftreten, müssen als positiv gelesen werden. Die Intensität der grauschwarzen Linien kann von schwach bis stark reichen. Es besteht kein direkter Zusammenhang zwischen der Intensität der Testlinie und dem Schweregrad der Infektion.



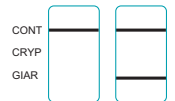
Giardia-positiv

Sichtbare grauschwarze Linien an den Positionen GIAR und CONT zeigen an, dass das *Giardia*-Antigen nachgewiesen wurde. Sichtbare Testlinien, die nur in Grau oder Schwarz aller Schattierungen auftreten, müssen als positiv gelesen werden. Die Intensität der grauschwarzen Linien kann von schwach bis stark reichen. Es besteht kein direkter Zusammenhang zwischen der Intensität der Testlinie und dem Schweregrad der Infektion.



Cryptosporidium-negativ

An der Position CRYP ist keine Linie sichtbar. Eine sichtbare grauschwarze Linie erscheint an der Position CONT. Dies zeigt an, dass das *Cryptosporidium*-Antigen fehlt oder unter dem nachweisbaren Spiegel liegt. Die Position GIAR kann entweder eine sichtbare grauschwarze Linie aufweisen oder nicht.



Giardia-negativ

An der Position GIAR ist keine Linie sichtbar. Eine sichtbare grauschwarze Linie erscheint an der Position CONT. Dies zeigt an, dass das *Giardia*-Antigen fehlt oder unter dem nachweisbaren Spiegel liegt. Die Position CRYP kann entweder eine sichtbare grauschwarze Linie aufweisen oder nicht.



Ungültige Ergebnisse

Wenn in der Position CONT keine Linie auftritt oder in den Positionen CRYP oder GIAR unvollständige oder unterbrochene Linien erscheinen, wird der Test als ungültig betrachtet. In Situationen, in denen aufgrund übermäßiger Partikelmasse kein angemessener Fluss in der Probe stattfindet, kann die Probe zweifach in entionisiertem Wasser oder im gleichen Transportmedium, in dem es ursprünglich gesammelt wurde, verdünnt werden. Dann kann der Test erneut durchgeführt werden. Der Test sollte mit einem anderen Gerät wiederholt werden. **Testlinien in anderen Farben als grau oder schwarz müssen als ungültig betrachtet werden.** Der Test sollte mit



einer alternativen Methode oder einer neuen Probe wiederholt werden. Wenn eine alternative Methode verwendet wird, müssen die angemessene Konservierung und das Alter der Probe überprüft werden (siehe Probennahme und Handhabung).

GRENZEN DES VERFAHRENS

- 1. Wie bei allen diagnostischen Verfahren sollten die Ergebnisse, die mit dem **ImmunoCard STAT!** Crypto/Giardia-Test erreicht werden, in Verbindung mit weiteren klinischen Informationen verwendet werden, die dem Arzt zur Verfügung stehen.
- 2. Negative Ergebnisse können mit Proben auftreten, die einen für den Test nicht nachweisbaren Antigen-Spiegel aufweisen. Es können mehrere Proben über mehrere Tage bei Patienten entnommen werden, bei denen ein Verdacht auf Giardia oder *Cryptosporidium* besteht.
- 3. Dieser Test wurde zur Verwendung mit Stuhlproben entwickelt, die in ein geeignetes Transportmedium entnommen wurden. Die Verwendung von Darmspülungen, Aspiraten oder anderen verdünnten Probenarten wurde nicht ermittelt und beeinflusst die Testleistung möglicherweise. Stuhlproben, die mit öl-oder partikelhaltigen Produkten verunreinigt sind (z. B. Barium, Mineralöle, u. a.), könnten den Test beeinflussen und sind daher nicht zu empfehlen.

ERWARTETE WERTE

Die Prävalenz von *Cryptosporidium* und Giardia variiert unter Verschiedenen Populationen und in geografischen Gebieten. Die Giardia-Inzidenz beträgt in entwickelten Ländern ca. 2% bis 5%; die *Cryptosporidium*- Inzidenz beträgt in Europa und Nordamerika ungefähr 1% bis 3%.³ Höhere Prävalenzraten können bei Kindern und immungeschwächten Patienten auftreten.¹⁻³

LEISTUNGSMERKMALESensibilität und Spezifität

Eine multizentrische klinische Evaluierung des **ImmunoCard STAT!** Crypto/Giardia-Tests wurde sowohl prospektiv als auch retrospektiv vorgenommen. Die Ergebnisse des *Cryptosporidium*- und Giardia-Tests wurden mit einer mikroskopischen Untersuchung auf Oozyten und Parasiten verglichen.

In der retrospektiven Studie wurde eine Prüfgruppe von zuvor charakterisierten, formalin-konservierten Patientenproben verwendet. Der Test wurde mit den Ergebnissen einer mikroskopischen Untersuchung verglichen. Die mikroskopische Untersuchung schloss eine Standardfärbung der Oozyten und Parasiten für Giardia und andere Parasiten, eine modifizierte säurefeste Färbung für *Cryptosporidium* und, wenn Diskrepanzen auftraten, spezifische immunofluoreszente Färbung für Crypto/Giardia ein.

Cryptosporidium Ergebnisse:

		ImmunoCard STAT! Cryptosporidium Ergebnisse	
		+	-
Mikroskopische Untersuchung für Cryptosporidium	+	36	1
	-	0	105

Sensibilität: $36/37 = 97,3\%$ (95% Vertrauensintervall 85,8 bis 100%)

Spezifität: $105/105 = 100\%$ (95% Vertrauensintervall 96,6 bis 100 %)

Der eine Fall von Diskrepanz wurde mittels Immunfluoreszenz als *Cryptosporidium*-positiv verifiziert und enthielt wahrscheinlich einen Gehalt an Antigenen, der unter der bei dem Test nachweisbaren Schwelle lag.

Cryptosporidium Ergebnisse:

		ImmunoCard STAT! Cryptosporidium Ergebnisse	
		+	-
EIA Schnelltest für Cryptosporidium	+	36	0
	-	0	106

Relative* Übereinstimmung zwischen dem Test und dem EIA Schnelltest für *Cryptosporidium*: $142/142 = 100\%$

* Anmerkung: Wir möchten darauf hinweisen, dass der Begriff „relativ“ sich auf den Vergleich zwischen den Ergebnissen dieses Tests und denen eines ähnlichen Tests bezieht. Es wurde kein Versuch unternommen, die Ergebnisse des Tests mit einer bestehenden oder nicht bestehenden Krankheit in Beziehung zu setzen. Eine Beurteilung hinsichtlich der Genauigkeit der Krankheitsprognose im Rahmen des Vergleichstests kann daher nicht abgegeben werden.

Giardia Ergebnisse:

		ImmunoCard STAT! Giardia Ergebnisse	
		+	-
Mikroskopische Untersuchung für Giardia	+	33	0
	-	0	109

Sensibilität: $33/33 = 100\%$ (95% Vertrauensintervall 89,4 bis 100%)
Spezifität: $109/109 = 100\%$ (95% Vertrauensintervall 96,7 bis 100%)

Giardia Ergebnisse:

		ImmunoCard STAT! Giardia Ergebnisse	
		+	-
EIA Schnelltest für Giardia	+	29	0
	-	4	109

Die vier diskrepanten Proben wurden durch Mikroskopie als *Giardia*-positiv bestimmt.
Relative* Übereinstimmung zwischen dem Test und dem EIA Schnelltest für *Giardia*: $138/142 = 97,2\%$.

* Anmerkung: Wir möchten darauf hinweisen, dass der Begriff „relativ“ sich auf den Vergleich zwischen den Ergebnissen dieses Tests und denen eines ähnlichen Tests bezieht. Es wurde kein Versuch unternommen, die Ergebnisse des Tests mit einer bestehenden oder nicht bestehenden Krankheit in Beziehung zu setzen. Eine Beurteilung hinsichtlich der Genauigkeit der Krankheitsprognose im Rahmen des Vergleichstests kann daher nicht abgegeben werden.

Die prospektive Studie wurde an Proben durchgeführt, die in drei unterschiedlichen, geografisch getrennten Zentren in den USA charakterisiert wurden. Insgesamt wurden 502 Proben mit dem *Cryptosporidium* und *Giardia* Schnelltest getestet. Die Ergebnisse wurden mit mikroskopische Untersuchungen auf Oozyten und Parasiten in Kombination mit modifizierter säurefester Färbung für *Cryptosporidium* verglichen.

Cryptosporidium Ergebnisse:

		ImmunoCard STAT! Cryptosporidium Ergebnisse	
		+	-
Mikroskopische Untersuchung für Cryptosporidium	+	73	0
	-	2	427

Sensibilität: $73/73 = 100\%$ (95% Vertrauensintervall 95,1 bis 100%)
Spezifität: $427/429 = 99,5\%$ (95% Vertrauensintervall 98,3 bis 99,9%)

Es traten zwei mutmaßlich falsche Positivwerte für *Cryptosporidium* in den obengenannten Daten auf. Diese Proben stammten von zwei Patienten, bei denen *Cryptosporidium* nicht durch eine Wiederholung der mikroskopischen Untersuchungen dokumentiert werden konnten.

Giardia Ergebnisse:

		ImmunoCard STAT! Giardia Ergebnisse	
		+	-
Mikroskopische Untersuchung für Giardia	+	50	0
	-	4	448

Sensibilität: $50/50 = 100\%$ (95% Vertrauensintervall 92,9 bis 100%)
Spezifität: $448/452 = 99,1\%$ (95% Vertrauensintervall 97,8 bis 99,8%)

Es traten vier mutmaßlich falsche Positivwerte mit dem **ImmunoCard STAT! Crypto/Giardia**-Test auf. Diskrepante Tests zeigten, dass alle vier Proben von Patienten stammten, die gemäß mikroskopie einer anderen Probe *Giardia*-positiv waren.

Reproduzierbarkeit

Eine Prüfgruppe von 15 Proben, die aus fünf Wiederholungen einer geringschwellig *Giardia*-positiven Probe, fünf Wiederholungen einer geringschwellig *Cryptosporidium*-positiven Probe und fünf Wiederholungen einer negativen Probe bestand, wurde zu fünf verschiedenen Gelegenheiten durch das Personal zweier diagnostischer Parasitologielabors getestet. Die Reproduzierbarkeit innerhalb des Tests wurde mit einer 100%igen Übereinstimmung (0% Variationskoeffizient) bei allen Wiederholungsproben innerhalb jeder Versuchsreihe demonstriert. Die Reproduzierbarkeit zwischen den Tests wurde mit einer 100% igen Übereinstimmung der Ergebnisse bei allen zehn getrennten Gelegenheiten, zu denen die Testgruppe getestet wurde, demonstriert.

Kreuzreaktion

Der *Cryptosporidium* und *Giardia*-Test wurde an Stuhlproben vorgenommen, die durch Mikroskopie als positiv für andere Parasiten bestimmt wurden.

Der *Giardia*-spezifische Teil des Tests zeigte keine Kreuzreaktion auf die folgenden Organismen:

<i>Ascaris lumbricoides</i> (1)	<i>Entamoeba coli</i> (14)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (13)
<i>Blastocystis hominis</i> (58)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (12)	<i>Microsporidia</i> (1)
<i>Chilomastix mesnili</i> (5)	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (14)	<i>Strongyloides stercoralis</i> (2)
<i>Cryptosporidium parvum</i> (121)	<i>Enterobius vermicularis</i> (1)	<i>Taenia sp.</i> (1)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (1)	<i>Enteromonas hominis</i> (2)	<i>Trichomonas hominis</i> (1)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (14)	<i>Hakenwurm</i> (1)	
<i>Endolimax nana</i> (28)	<i>Hymenolepis nana</i> (3)	

Die Zahlen in Klammern stellen die Anzahl der Proben dar, die für jeden Organismus getestet wurden.

Der *Cryptosporidium*-spezifische Teil des Tests zeigte keine Kreuzreaktion auf die folgenden Organismen:

<i>Ascaris lumbricoides</i> (1)	<i>Entamoeba coli</i> (21)	<i>Hymenolepis nana</i> (4)
<i>Blastocystis hominis</i> (92)	<i>Entamoeba hartmanni</i> (20)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (12)
<i>Chilomastix mesnili</i> (6)	<i>Entamoeba histolytica/dispar</i> (19)	<i>Microsporidies</i> (1)
<i>Cyclospora cayetanensis</i> (1)	<i>Enteromonas hominis</i> (2)	<i>Strongyloides stercoralis</i> (2)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (16)	<i>Giardia lamblia</i> (132)	<i>Taenia sp.</i> (2)
<i>Endolimax nana</i> (48)	<i>Hakenwurm</i> (1)	<i>Trichomonas hominis</i> (1)

Die Zahlen in Klammern stellen die Anzahl der Proben dar, die für jeden Organismus getestet wurden.

REFERENCES

1. Garcia LS, and Bruckner DA. Diagnostic Medical Parasitology, 3rd edition, Washington, D.C.: ASM Press. 1997.
2. Wolfe MS. "Giardiasis," Clin. Microbiol. 1992; Rev. 5: 93-100.
3. Marshall MM, Naumovitz D, Ortega Y and Sterling CR. "Waterborne protozoan pathogens," Clin. Microbiol. 1997; Rev. 10: 67-85.
4. Rosoff JD, Sanders CA, Sonnad SS, DeLay PR, Hadley WK, Vincenzi FF, et al. "Stool diagnosis of giardiasis using a commercially available enzyme immunoassay to detect *Giardia*-specific antigen 65 (GSA 65)," J. Clin. Microbiol. 1989; 27: 1997-2002.
5. Kehl KC, Cicirello H and Havens PL. "Comparison of four different methods for the detection of *Cryptosporidium* species," J. Clin. Microbiol. 1995; 33: 416-418.
6. Garcia LS and Shimizu RY. "Evaluation of nine immunoassay kits (enzyme immunoassay and direct fluorescence) for detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* in human fecal specimens," J. Clin. Microbiol. 1997; 35: 1526-1529.



(1 bag of 30) Specimen transfer pipettes.

(1 bag of 30) Specimen dilution tubes.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. For In Vitro Diagnostic Use.
2. Do not use kit beyond the printed expiration date.
3. Handle all patient samples as if they are capable of transmitting infectious disease. Dispose of them properly. Ship samples according to federal regulations regarding the transportation of Infectious agents.
4. **WARNING:** Sample Treatment Buffer, Conjugate Reagent A and Conjugate Reagent B solutions contain sodium azide. Sodium azide may react with lead or copper plumbing to form explosive metal azides. Use copious amounts of water to flush discarded solutions.
5. Do not interchange or mix components from different kit lots.

HAZARDS AND PRECAUTIONARY STATEMENTS

There are no known hazards associated with this product.

STORAGE

Store kit refrigerated 2 to 8 C (36 to 46 F) and return kit to the refrigerator promptly after each use.

DO NOT FREEZE.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Stool specimens collected for ova and parasite examination can be used in the Crypto/Giardia assay. The samples should be collected in clean, leak-proof plastic containers.

Samples collected in SAF, 10% formalin, MIF, Cary-Blair, C&S, or Stuart's transport media are the preferred media for specimen collection, transport and test. It is recommended that specimens collected in MIF fixative be tested before the addition of Iodine. Samples in PVA are not suitable.

Fresh (unpreserved) samples

Solid, semi-solid or liquid samples are acceptable but must be diluted 1:4 in an acceptable transport media before running the test. If transport media is not available, distilled or deionized water may be used. In cases of solid or semi-solid samples, mix the specimen using a wooden applicator or equivalent prior to dilution.

To make a 1:4 dilution:

- Remove the equivalent of 1 mL mixed specimen and place into 3 mL of acceptable transport media.
- Mix thoroughly and proceed with test.

Cary-Blair, C&S, and MIF may interfere with certain confirmatory test methods. Alternative transport media for patient specimens may be recommended for confirmatory testing. As with all test methods, product literature for product performance claims and limitations should be reviewed prior to use. **Fresh samples and specimens in Stuart's media** should be tested as soon as possible after collection, as extended storage conditions have not been validated.

Formalin and SAF preserved specimens can be stored frozen (-20 C or -70 C), refrigerated (2 – 8 C) or at room temperature (20 – 30 C) and should be tested within two months after collection.	Cary-Blair or C&S diluted samples can be stored refrigerated (2 – 8 C) and tested within two weeks after collection or frozen (-20 C) and tested within two months.	MIF preserved specimens can be stored frozen (-20 C), refrigerated (2 – 8 C) or at room temperature (20 – 30 C) and should be tested within two months after collection.
--	---	--

QUALITY CONTROL

Several features are incorporated into the *Crypto/Giardia* test as routine quality checks:

1. The appearance of a control band at the CONT position verifies that a functionally intact colloidal dye conjugate has been added to the device, that the control line antibody is functionally active and that adequate capillary flow has occurred.
2. Characterized formalin preserved patient specimens may be used as routine external positive and negative controls. Characterized samples should be run as test specimens according to the procedures described below.
3. Quality Control requirements should be established in accordance with local, state and federal regulations or accreditation requirements. Minimally Meridian Bioscience recommends that positive and negative external controls be run with each new lot and with each new untrained operator.



Manufactured By

Meridian Bioscience, Inc.

3471 River Hills Drive
Cincinnati, OHIO – 45244 USA
www.meridianbioscience.com

Contacts:

Main Telephone (+1) 513.271.3700
Customer Service/Orders 800.543.1980
Technical Support Center 800.343.3858

Information Fax: 513.272.5432
Ordering Fax: 513.271.0124
E-mail: info@meridianbioscience.com



Meridian Bioscience Europe, SRL

Via Dell'Industria 7, 20035 Villa Cortese
(Milano) ITALY
www.meridianbioscience.com

Contacts:

Main Telephone (+39) 0331.433636
E-mail: info@meridianbioscience.eu
Technical Support:
MBE-TechService@meridianbioscience.eu

Customer Service/Orders:

- For Italian Customer:
ordini@meridianbioscience.com
- For Distributors / International Customers:
Export.CustomerService@meridianbioscience.eu

**AUSTRALIAN
SPONSOR**

Emergo Australia

Level 20, Tower II
Darling Park
201 Sussex Street
Sydney, NSW 2000
Australia

For technical assistance, please call our Technical Support Center at 1-800-343-3858 between the hours of 8 AM and 6 PM Eastern Standard Time. To place an order, please call our Customer Service Department at 1-800-543-1980.

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symboles, Guía de símbolos, Zeichenerklärung)

 Manufacturer / Fabbricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller	LOT Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / chargenbezeichnung
IVD In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	 Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten
REF Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Numero de catálogo / Bestellnummer	 Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis
 Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenu suffisant pour "n" test / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	 Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de temmperatura / Temperaturbegrenzung
SN Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	TEST Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / testgarät
 Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	BUF Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer
CONJ Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat	SUBS Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat
 For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD réservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung	 Do not use if package is damaged / Non utilizzare se la confezione è danneggiata / Ne pas utiliser si le paquet est endommagé / No use si el paquete está dañado / Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist
 Single Use Only / Prodotto Monouso / A usage unique / Para Un Solo Uso / nur für die einmalige Anwendung	 Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Eingrieren
CONTROL + Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positive / Positive Kontrolle	CONTROL - Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
BUF WASH 20X Wash Buffer Concentration 20X / Soluzione di lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat	EC REP Authorized representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
 CAUTION: Risk of Danger / ATTENZIONE: Pericolo / AVERTISSEMENT: Risques de danger / Precaución: Peligroso / WARNUNG: Risikogefahr	TUBE Empty Tube / Provetta vuota / Tube vide / Tubo vacío / Leeres Gefäß
BUF RXN Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer	Rx Only Prescription Use Only / Per l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Uso Por Receta / verschreibungspflichtig
SOLN STOP Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung	CONJ ENZ Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjugado enzimático / Enzymkonjugat
CONTROL Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest	REAG Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
BUF WASH Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampón de lavado / Waschpuffer	 Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
DIL SPE Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer	DET REAG Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Detection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagenz
CE Meridian products carrying the European Conformity (CE) mark fulfill the requirements of Directive 98/79/EC or the Regulation 2017/746 on in-vitro diagnostic medical devices / I prodotti Meridian recanti il marchio di Conformità Europea (CE) soddisfano i requisiti della Direttiva 98/79/CE o del Regolamento 2017/746 sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Les produits Meridian portant la marque de Conformité européenne (CE) sont conformes aux exigences de la Directive 98/79/CE ou du Règlement 2017/746 relatifs aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Los productos de Meridian que llevan la marca de conformidad europea (CE) cumplen los requisitos de la Directiva 98/79/CE o del Reglamento 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Produkte von Meridian mit der CE-Kennzeichnung erfüllen die Anforderungen der EU-Richtlinie 98/79/EG bzw. der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika	
CH REP Swiss Authorized Representative / Mandatario svizzero / Mandataire Suisse / Representante Autorizado Suizo / Schweizer Bevollmächtigter	
SMP PREP DIL SPE Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenvorbereitung, in dem sich Probenverdünnungspuffer befindet	

ImmunoCard STAT!® is a registered trademark of Meridian Bioscience, Inc. Licensed under U.S. Patent nos. 5,714,389; 5,989,921 and 6,485,982 and related non-U.S. Patents and patent applications.