

GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK®

Rychlá membránová enzymová imunoanalýza pro společnou detekci a diferenciaci antigenu cyst *Giardia* a antigenu *Cryptosporidium* oocyst ve vzorku lidské stolice.

Katalogové číslo T30407 (25 Tests)

Chráněno patentem: Australian Patent No. 2005309443, další patent přihlášen

POUŽITÍ

Giardia/Cryptosporidium QUIK CHEK® je rychlý imunochromatografický enzymový membránový test pro souběžné kvalitativní stanovení a rozlišení antigenů cyst *giardií* a oocyst kryptosporidií v jedné kazetě. Test je určen pro použití vzorků lidské stolice od pacientů s gastrointestinálními příznaky a napomáhá při diagnostice giardiových a/nebo kryptosporidiových gastrointestinálních infekcí. Výsledky testů by měly být vždy posuzovány v návaznosti na anamnézu pacienta.

Pouze pro in vitro diagnostické použití!

VYSVĚTLENÍ TESTU

Giardia spp. je dvoujaderný bičíkatý parazitický prvok, který se v lidském organismu vyskytuje ve dvou formách: neinfekční formě hruškovitého tvaru obývající tenké střevo nazývaní se trofozoit (velikost 9 až 20 µm) a vysoce infekční cystické formě eliptického tvaru o velikosti pohybující se mezi 8 a 12 µm (1). Mimo tělo svého hostitele se významně liší délka doby přežití u těchto dvou forem. Trofozoit, který je velmi citlivý k vnějším podmínkám, přežívá mimo přirozené prostředí jen několik hodin, zatímco cystická forma může ve vnějším prostředí přežít po několik dní (1). Bylo prokázáno, že cestovatelé se obvykle v endemických oblastech nakazí giardiózou kontaktem s kontaminovanou vodou (2-5). K přenosu také dochází přímým kontaktem, zejména od bezpříznakových nosičů nejčastěji orofekální kontaminací potravin (6-7). Mezi vysoce rizikové osoby patří malé děti, imunokompromitovaní pacienti a pacienti bez předchozího kontaktu s organismem (8). Sále častěji se stává infekce giardiemi běžnou sexuálně přenosnou nemocí (9). Kontaminace zvířecími exkrementy, zejména zdrojů pitné vody, je další cestou přenosu infekce u lidí (4, 10, 11). Klinické projevy giardiózy jsou velmi pestré, od asymptomatického nosičství s vylučováním infekčních cyst až k chronickým úporným průjmům, ztrátou tělesné hmotnosti a malabsorpčními příznaky (8,12,13).

Cryptosporidium spp. je parazitický prvok obratlovců, jež byl dříve považován za původce infekčních průjmů pouze u zvířat (14). Až v roce 1976 byla popsána první infekce člověka (15). Následně byl prvok prokázán jako kauzální původce průjmových onemocnění po celém světě a je častým původcem cestovatelských průjmů (14,16). Toto onemocnění se přenáší pomocí silnostěnných oocyst o průměrné velikosti 2-6µm, které jsou velmi odolné vůči běžným dezinfekčním prostředkům a standardním postupům chlorování pitné vody. Přímý přenos z člověka na člověka, zejména mezi dětmi, je běžný (17). *Cryptosporidium* má dle doposud zjištěných skutečností velmi malou až žádnou hostitelskou specifitu a většina živočichů jako jsou hlodavci, skot a domácí zvířata slouží jako rezervoár a umožňuje přenos na člověka jako klasické zoonózy (14,18). K přenosu infekce dochází buď přímým stykem, nebo kontaminací vodních zdrojů výkaly (14,19-21). Kryptosporidióza je vážnou oportunní infekcí u pacientů se syndromem získané imunodeficiency (AIDS) a je potenciálně sexuálně přenosným onemocněním (19,22). Klinické projevy

kryptosporidie patří choleře podobné vodnaté průjmy, bolesti břicha, nevolnost, zvracení a ztráta tělesné hmotnosti. U normálně imunitně disponovaných osob trvá onemocnění obvykle krátkou dobu a bez léčby dochází k uzdravení. U imunosuprimovaných pacientů a pacientů s AIDS může *Cryptosporidium* způsobit zdlouhavé a život ohrožující onemocnění v důsledku nadměrných ztrát tekutin. U těchto pacientů může také infekce postihnout tkáň dýchacího ústrojí a žlučových cest (19).

PRINCIP TESTU

Test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[®] využívá monoklonálních a polyklonálních protilátek proti antigenům buněčného povrchu obou organismů. Testovací kazeta obsahuje reakční okno (*Reaction Window*) se třemi svislými liniemi obsahujícími navázané imobilizované protilátky.

Testovací linie identifikující giardie (označena "Giar") obsahuje myší monoklonální protilátky proti giardiím. Testovací linie identifikující kryptosporidia (označena "Cryp") obsahuje myší monoklonální protilátky proti kryptosporidiím. Kontrolní linie (označena "C") je tečkovaná čára, která obsahuje protilátky proti křenové peroxidáze (HRP).

Konjugát obsahuje polyklonální protilátky s navázanou křenovou peroxidázou. Před provedením testu je vzorek stolice přidán do zkumavky obsahující směs ředícího roztoku (*Diluent*) a konjugátu (*Conjugate*). Takto naředěný vzorek je přenesen do jamky (*Sample Well*) v testovací kazetě a inkubuje se při pokojové teplotě po dobu 15 minut. Během inkubace se přítomné antigeny cyst a oocyst ve vzorku stolice navážou na konjugát protilátek s peroxidázou. Tyto komplexy antigen-protilátka-konjugát migrují přes filtrační podložku na membránu a dále vzlínají k testovacím liniím s vázanými specifickými protilátkami proti giardiím a kryptosporidiím. Do reakčního okna (*Reaction Window*) je aplikován promývací pufr (*Wash Buffer*) a poté je přidán substrát (*Substrate*). Po desetiminutové inkubační době se výsledek reakce hodnotí pohledem, kdy průkazné jsou svislé modré čáry na obou stranách reakčního okna. Modrá čára značí pozitivní výsledek testu. Pozitivitu "kontrolní" reakce potvrzuje objevení svislé tečkované modré čáry v části reakčního okna označené písmenem "C". Tento výsledek kontroly je průkazem správného průběhu testu a výsledky mohou být považovány za platné.

Materiál poskytovaný v soupravě

MEM DEV	Testovací kazeta - každý sáček obsahuje 1 kazetu
DIL SPE	Ředící pufr – diluent (20 ml) – pufrovaný roztok proteinů s kapátkem se stupnicí
WASH REAG	Promývací pufr (12 ml) - pufr s kapátkem se stupnicí
SUBS REAG	Substrát (3,5 ml) - roztok obsahující tetramethylbenzidin
CONJ ENZ	Konjugát (2,0 ml) - polyklonální protilátka proti povrchovému antigenu Giardií s navázanou křenovou peroxidázou a polyklonální protilátka proti povrchovému antigenu kryptosporidií s navázanou křenovou peroxidázou v pufrovaném proteinovém roztoku
CONTROL +	Pozitivní kontrola (2,5 ml) - inaktivovaná pozitivní kontrola <i>Giardia</i> spp. a <i>Cryptosporidium</i> spp. v pufrovaném proteinovém roztoku

Jednorázové plastové pipety – dělené na 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl, a 500 µl

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ SOUPRAVY

Mikrozkumavky (např. typ Eppendorf)

Stopky

Jednorázové rukavice pro manipulaci se vzorky

Aplikátor na vzorky

Vortex

Pipeta a špičky

DOBA POUŽITELNOSTI A SKLADOVÁNÍ

Datum expirace soupravy je uveden na štítku každé soupravy. Expirace reagensů v soupravě jsou uvedeny na jejich štítcích. Soupravu skladujte v rozmezí 2°-8°C.

OPATŘENÍ

1. Každá součást soupravy by měla být před použitím prohlédnuta k vyloučení možného poškození. Po převzetí balení zkontrolujte celou soupravu, zda jednotlivé komponenty nejsou zmrazené nebo horké v důsledku nevhodných přepravních podmínek.
2. Dodaný substrát (*Substrate*) by měl být bezbarvý. Pokud by došlo ke změně barvy substrátu do tmavě modré až fialové, činidlo nepoužívejte a kontaktujte dodavatele pro jeho výměnu.
3. Činidla z různých souprav by se neměla zaměňovat. Nepoužívejte soupravu po uplynutí doby použitelnosti.
4. Uzávěry, špičky a kapátka jsou barevně odlišené; vzájemně nemíchejte a nezaměňujte!
5. Ponechte všechny komponenty před upotřebením temperovat na POKOJOVOU TEPLOTU!
6. Chraňte činidla před mrazem. Sadu je nutné skladovat při teplotách v rozmezí 2 °C až 8 °C.
7. Obal obsahující kazetu s membránou (*Membrane Device*) by měl mít při otvírání pokojovou teplotu. Je třeba dbát na to, aby testovací kazeta s membránou byla před použitím suchá.
8. Držte lahvičky s činidly vertikálně pro zajištění konzistentní velikosti kapek a tím správný objem.
9. Mikrobiální kontaminace reagensů může významně snižovat přesnost výsledku reakcí. Zamezte mikrobiální kontaminaci činidel používáním sterilních jednorázových pipet, pokud dochází k odebírání alikvot z lahviček s činidly.
10. Testovací kazeta s membránou (*Membrane Device*) nelze nikdy použít opakovaně.
11. Testovací postup je optimalizován pro dosažení nejvyšší senzitivity a specificity. Jakékoli změny v doporučeném postupu či nedodržení doporučených podmínek mohou mít vliv na vlastnosti testu. Postupujte vždy důsledně podle doporučeného postupu.
12. Pozorně dodržujte správnou celkovou dobu testu, pokud testujete více než jeden vzorek stolice. Přidejte nejprve ředící roztok (*Diluent*) a teprve poté přidejte konjugát (*Conjugate*) do každé zkumavky s ředícím roztokem. Poté se přidá vzorek stolice do zkumavky se směsí ředícího roztoku a konjugátu. Důkladně promíchejte všechny takto nařaděné vzorky následně a přeneste na membránu testovací kazety. 15-ti minutová inkubace počíná po posledním přenesení vzorku směsi konjugátu a vzorku na membránu testovací kazety.
13. Vzorky stolice před testováním nekoncentrujte.
14. Pro dosažení optimálních výsledků používejte čerstvé vzorky stolice odebrané nejpozději 72 hodin před testováním. Zmrazené vzorky stolice mohou ztrácet antigenní aktivitu při procesu zmrazování a rozmrazování. Používáte-li zmrazené vzorky, ponechejte je rozmrazit při pokojové teplotě.
15. Funkčnost tohoto testu je zachována i u vzorků stolice uchovaných v 10% formalínu, octanem sodným s formaldehydem a transportních médiích jako jsou Cary Blair nebo C&S pokud jsou dodrženy postupy přípravy vzorku uvedené v tomto návodu. U ostatních fixačních činidel a transportních médií nebyla funkčnost testu ověřena.
16. Po použití je třeba se vzorky a testovací kazetou zacházet a následně provádět likvidaci jako s potenciálně nebezpečným odpadem. Při provádění testu používejte jednorázové rukavice.
17. Vzorky stolice mohou obsahovat potenciálně infekční mikroorganismy a mělo by s nimi být zacházeno na úrovni 2 biologické bezpečnosti (BSL2) za podmínek uvedených v příručce CDC / NIH "Biologická bezpečnost v mikrobiologických a biomedicínských laboratořích" ("Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories").

ODBĚR VZORKŮ A MANIPULACE S ČERSTVÝMI VZORKY STOLICE

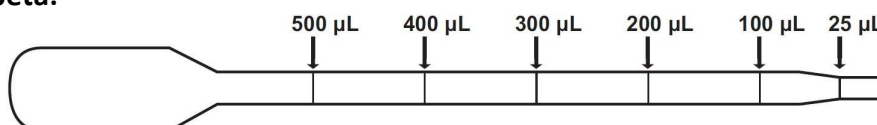
Vzorky rutinně odebrané pro vyšetření přítomnosti vajíček a parazitů mohou být použity i pro testování *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK® testem. Vzorky stolice by měly být sbírány a skladovány v čistých a nepropustných kontejnerech.

1. Postačuje standardní odběr a zpracování vzorků po odběru v domácím prostředí.
2. Čerstvé, nezpracované vzorky by měly být skladovány v rozmezí 2° až 8°C. Pokud je to možné testujte vzorky do 72h po odběru. Pokud nemůžete zpracovat vzorky do 72h po odběru, uchovávejte je zmrazené ($\leq -10^{\circ}\text{C}$). Takto uchovávané vzorky lze skladovat až po dobu až 90 dnů. Zmrazením a rozmrazením vzorků může dojít k částečné degradaci antigenů. Zamezte opakovanému rozmrazování a opětovnému zmrazování vzorků. Používáte-li zmrazené vzorky, rozmrazujte je při pokojové teplotě.
3. Vzorky zkoncentrované nebo vzorky, které byly fixované vzorky pomocí PVA, nejsou vhodné pro použití s tímto testem.
4. Ujistěte se, že vzorky byly PŘED provedením testu řádně promíchány.
5. Skladování fekálních vzorků v *Diluent* - ředícím roztoku se NEodporčuje.

PŘÍPRAVA VZORKU

1. Nechte všechny reagenty a požadovaný počet testovacích kazet před použitím vytemperovat na pokojovou teplotu.
2. Označte pro každý vzorek jednu mikrozkušavku a případně další pro externí kontrolu kvality.
3. Použijte šedé kapátko a přidejte 500 μl ředícího pufru - *Diluentu* do každé mikrozkušavky pro vzorky stolice. Pro vzorky, které jsou fixované např. v 10% formalínu, přidejte do mikrozkušavky pouze 400 μl *Diluent* - ředícího pufru. Pro testování externích kontrol přidejte také do každé zkumavky 400 μl ředícího pufru.
4. Přidejte jednu kapku *Konjugátu* (lahvička s červeným víčkem) do každé zkumavky.
5. Vezměte pro každý vzorek jednu dělenou pipetu (viz obrázek níže), která se dodává se soupravou. Pipeta je dělená na tyto objemy: 25 μl , 100 μl , 200 μl , 300 μl , 400 μl , a 500 μl .

Dělená pipeta:



6. Promíchejte všechny vzorky důkladně bez ohledu na jejich konzistenci, je důležité, aby vzorky byly rovnoměrně rozmíchány na suspenzi před jejich přenosem na membránu.

Tekuté/Polotuhé vzorky - nepipetujte dělenou pipetou 25 μl vzorku do zkumavky se směsí diluentu a konjugátu.

Formované/pevné vzorky - Je třeba dbát na odběr správného množství stolice. Vzorek odeberte pomocí dřevěné tyčinky cca 2 mm (ekvivalent 25 μl) do zkumavky se směsí diluentu a konjugátu. Vzorek rozmíchejte pomocí tyčinky.

Vzorky stolice ve fixačním roztoku nebo v transportním médiu - do zkumavky se směsí diluentu a konjugátu přidejte 100 μl vzorku.

7. **Volitelné externí kontrolní vzorky:**

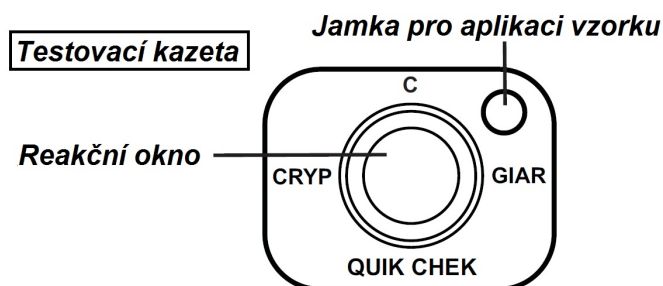
Externí pozitivní kontrola - přidejte čtyři kapky pozitivní kontroly (lahvička s šedým víčkem) do příslušné zkumavky obsahující ředící pufr.

Externí negativní kontrola - přidejte 100 μl diluent do příslušné zkumavky obsahující diluent.

Poznámka: Použití příliš malého množství vzorku nebo nedostatečně dobře rozmíchaný vzorek ve směsi diluentu a konjugátu mohou způsobit falešně negativní výsledky testu. Přidání příliš velkého množství vzorku může způsobit nedostatečné vztlínání roztoku membránou.

POSTUP TESTU

1. Připravte si pro každý vzorek jednu testovací kazetu. Stejně tak si připravte kazetu pro každou pozitivní i negativní kontrolu. Zabalené kazety ve fólii, by měly být před otevřením přeneseny do pokojové teploty a měly by být vytemperovány. Po otevření obalu kazetu ihned použijte. Označte si kazetu číslem pacienta a orientujte ji nápisem „QUIK CHEK“ směrem dolů na hladké rovné podložce.



2. Důkladně uzavřenou mikrozkuhavku s naředěným vzorkem a intenzivně promíchejte. Pro lepší promíchání lze použít vortex. Již naředěné vzorky v *roztoku diluentu* a *konjugátu* mohou být po dobu 24h uchovávány při teplotě 2° - 8°C před aplikací na membránu.
3. Pomocí nové dělené pipety přeneste 500 µl naředěného vzorku do jamky pro aplikaci vzorku (menší otvor v pravém horním kazety – (Sample Well) a přesvědčte se, že došlo k nasátí vzorku do membrány v testovací kazetě (*Membrane Device*). Při aplikaci vzorku do jamky, se ujistěte, že je špička pipety nakloněna směrem k reakčnímu oknu (větší otvor ve středu kazety).
4. Inkubujte kazetu při pokojové teplotě po dobu 15 minut - vzorek se díky vzlínání rozptýlí po celém reakční podložce, která je umístěná v kazetě.

POZNÁMKA: VZORKY, U KTERÝCH NEDOJDE K MIGRACI MEMBRÁNOU:

Ve výjimečných případech se stane, že se vzorek v aplikační jamce srazí a nepostupuje dále membránou. Obvykle tato situace nastává, při příliš velkém množství vzorku v roztoku. Pokud do pěti minut nedojde k vsáknutí vzorku membránou, přidejte 100 µl (4 kapky) Diluent - ředícího pufru do aplikační jamky (Sample Well) a vyčkejte dalších pět minut (celkem 20 minut). Pokud i tento postup selže a vzorek po membráně nemigruje, provedte test znovu.

5. Po inkubaci přidejte 300 µl promývacího pufru do reakčního okna pomocí bílého kapátka nebo podobným zařízením. Nechte promývací pufr vsáknout kompletně do membrány.
6. Přidejte 2 kapky substrátu (lahvička s bílým víčkem) do reakčního okna. Po 10 minutách vyhodnoťte výsledek.

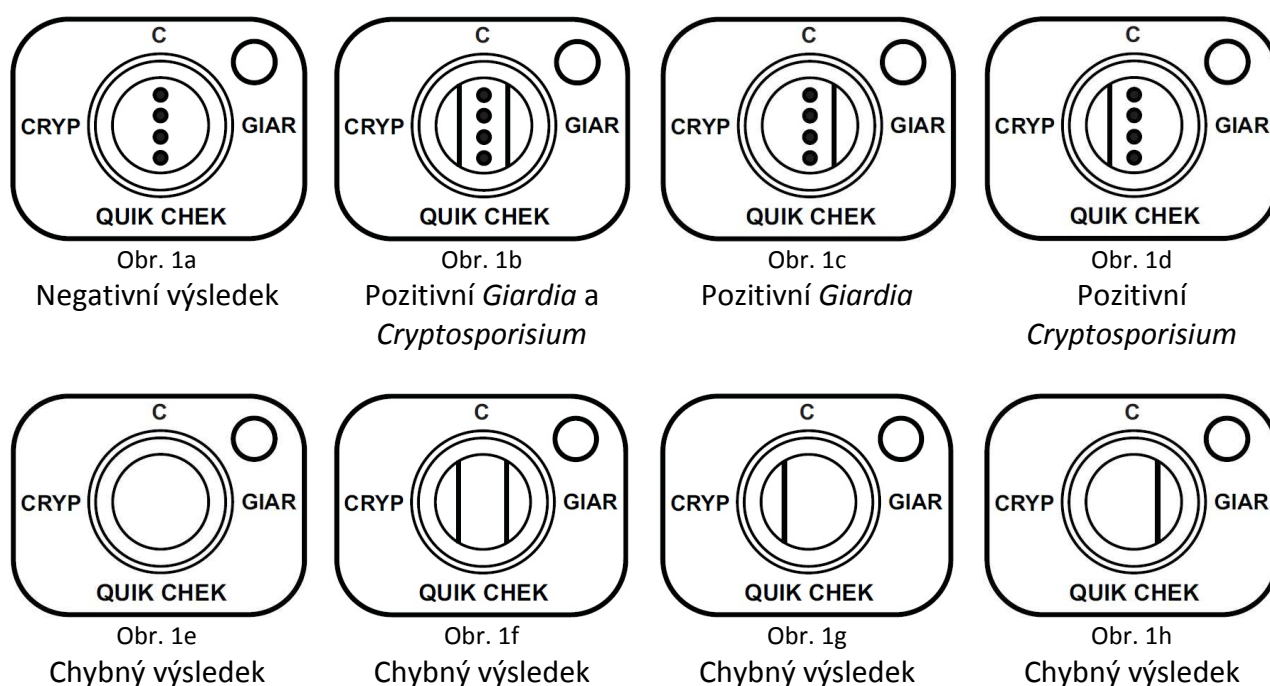
INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

1. Vyhodnocení testu je nejspolehlivější provádět ihned na konci inkubační doby. Odečítejte vzorky na běžnou čtecí vzdálenost při standardním osvětlení. Linie jsou viditelné přímo v testovací kazetě. Pozitivní výsledek lze interpretovat kdykoliv od přidání substrátu do reakční jamky až po uplynutí 10-ti minutové inkubační doby. Negativní výsledek může být vyhodnocen jako negativní až po uplynutí stanovené 10-ti minutové inkubační doby.
2. Dbejte na to, abyste v testovací kazetě vždy viděli modré tečky mezi reakčními zónami, které představují pozitivní výsledek vnitřní kontroly. Odečítejte modrou čáru vedle interní pozitivní kontroly. Na pravé straně pozitivita prvoka *Giardia* spp. a na levé straně pozitivita prvoka *Cryptosporidium* spp.. Linie se mohou jevit jako slabé až silné zbarvení.
3. **Pozitivní výsledek na Giardie (obr. 1b, 1c):** Objeví se tečkovaná kontrolní linie a plná linie na straně *Giardia* (na pravé straně). Tyto linie se mohou jevit jako slabě až tmavě intenzivní - každá modrá čára na pravé straně vedle kontrolní linie se považuje za pozitivní. Nepovažujte

jakékoliv jiné zbarvení membrány jako pozitivní výsledek. Pozitivní výsledek lze vyhodnotit při současně řádně zobrazené pozitivní kontrolní linii a přítomnosti antigenu *Giardia* spp.

4. **Pozitivní výsledek na Cryptosporidia (obr. 1b, 1d):** Objeví se tečky kontrolní linie a plná linie na straně *Cryptosporidium* (na levé straně). Tyto linie se mohou jevit jako slabě až tmavě intenzivní - každá modrá čára na levé straně vedle kontrolní linie se považuje za pozitivní. Nepovažujte jakékoliv jiné zbarvení membrány jako pozitivní výsledek. Pozitivní výsledek lze vyhodnotit při současně řádně zobrazené pozitivní kontrolní linii a přítomnosti antigenu *Cryptosporidium* spp.
5. **Negativní výsledek (obr. 1a):** Ve středu reakčního okna se objeví modře tečkovaná kontrolní linie. Jiné linie nejsou patrné. Negativní výsledek znamená, že antigeny giardií ani kryptosporidií nejsou ve vzorku přítomné nebo jsou pod detekčním limitem tohoto testu.
6. **Chybný výsledek (obr. 1e-1h):** Test je chybný, pokud po inkubační době není v reakčním okně přítomná modře tečkovaná kontrolní linie (obr. 1e-1h).

Obrázek 1: *Giardia/Cryptosporidium QUIK CHEK*[®] - INTERPRETACE VÝSLEDKŮ



KONTROLA KVALITY

Interní kontrola kvality: modře tečkovaná kontrolní linie musí být v reakčním okně přítomná ve středu pod písmenem "C" a to na každé kazetě, která je použita k testování. Přítomnost kontrolní linie znamená, že vzorek a činidla byly aplikovány na kazetu správně a že reagentie byly v době provádění testu funkční. Za negativní vnitřní kontrolu je považováno bezbarvé pozadí membrány. Pokud byl test proveden správně, pak je bílé pozadí považováno za negativní kontrolu kvality stanovení.

Externí kontrola kvality: reaktivita *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[®] soupravy by měla být ověřena pomocí testování pozitivních a negativních kontrol (ředění). Pozitivní kontrola je dodávána se soupravou (lahvička s šedým víčkem). Pozitivní kontrola ověřuje reaktivitu ostatních reagentií obsažených v kitu. Ředící pufr se používá jako negativní kontrola. Další kontrolní testy mohou být prováděny, tak aby splňovaly požadavky místních či státních předpisů nebo akreditačních organizací.

OMEZENÍ

1. *Giardia/Cryptosporidium QUIK CHEK*[®] test se používá k detekci *Giardia* a/nebo *Cryptosporidium* ve vzorcích stolice. Test potvrzuje přítomnost antigenu ve stolici a informace, které test poskytuje, by měly být dále posuzovány s ohledem na klinickou anamnézu a fyzikální vyšetření pacienta lékařem.
2. Vzorky stolice jsou složitý materiál. Optimální výsledky s *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[®] testu jsou získány ze vzorků, které nejsou starší než 72 hodin. Většina neředěných čerstvých vzorků, může být uložena při 2°C až 8°C po dobu 72 hodin, aniž by došlo k degradaci antigenu. Pokud vzorky nelze zpracovat do této doby, lze je zmrazit až na dobu 90 dní a následně před testováním rozmrazit. Nicméně, opakované zmrazování a rozmrazování může vést ke ztrátě v imunoreaktivitě antigenu.
3. Některé vzorky mohou vykazovat slabou reakci. To může být způsobeno řadou faktorů, jako je přítomnost nízkých hladin antigenu, přítomnost látek vázajících antigen ve stolici nebo přítomnost degradačních enzymů ve stolici. *Za těchto podmínek by měl být testován čerstvý vzorek.*
4. *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[®] test je pouze kvalitativní test. Intenzita zbarvení by neměla být interpretována kvantitativně.
5. Použití koncentrovaných vzorků stolice nebylo hodnoceno.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Zdraví jedinci by neměli být infikováni parazity *Giardia* spp. nebo *Cryptosporidium* spp. a měly by tedy při testování vykazovat negativní výsledek v *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK* testu. Pozitivní výsledek testu *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[®] ukazuje, že osoba vylučuje zjištělné množství antigenu giardií a/nebo kryptosporidií. Výskyt infekce giardiemi a kryptosporidiemi se významně liší mezi jednotlivými populacemi a zeměpisnými regiony. U dětí v předškolních zařízeních byl prokázán vyšší výskyt infekce giardiemi než u normální populace (21). Kromě této skupiny byl vyšší výskyt infekce prokázán i u homosexuálních mužů (22). Obecně je laboratorně prokázána incidence kryptosporidiózy ve vyspělých zemích 1-2% s celkově vyšším výskytem u dětí (23).

Prospektivní studie, které byly designovány k ověření testu *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[®], byly provedeny v asijské nemocnici se specializací na průjemová onemocnění. Studie zahrnovaly 129 čerstvě odebraných vzorků stolice. Pozitivní výsledek *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[®] testu byl získán v 22,5% případech na přítomnost antigenů *Giardia* spp. a 5,4% případů na přítomnost antigenů *Cryptosporidium* spp.

CHARAKTERISTIKY TESTU

Charakteristiky testu *Giardia/Cryptosporidium QUIK CHEK*[®] byly hodnoceny ve 3 studiích na 3 geograficky odlišných místech. U studií označených Site # 1 a Site # 3 byly charakteristiky testu *Giardia/Cryptosporidium QUIK CHEK*[®] srovnány s nepřímou fluorescenční mikroskopií (IFA) v počtu 220 vzorků čerstvé stolice, 140 vzorků zmrazených, 216 vzorků fixovaných ve formalínu a 215 fixovaných ve formalínu s octanem sodným. U studií označených # 1 a # 2 byly charakteristiky testu *Giardia/Cryptosporidium QUIK CHEK* srovnávány s dvěma komerčně dostupnými ELISA testy (určené zařízení pro diagnostiku prvoků *Giardia* a *Cryptosporidium*) u 349 vzorků čerstvé stolice, 322 vzorků zmrazených, 36 vzorků fixovaných ve formalínu a 142 fixovaných ve formalínu s octanem sodným.

Vlastnosti testu při srovnání s fluorescenční mikroskopií (IFA) - kombinace výsledků ze studií označených Site # 1 a Site # 3:

Pro diagnostiku *Giardia* spp.

Následující tabulka uvádí souhrn klinických charakteristik části testu *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK® pro diagnostiku giardií. *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK® test při srovnání s výsledky mikroskopie IFA (považován a za zlatý standard diagnostiky) dosáhl 98,9% senzitivity, 100% specifity a celkovou korelaci 99,7%.

Souhrnné výsledky – Vlastnosti testu pro diagnostiku giardií jako součást testu *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK® ve srovnání s fluorescenční mikroskopií – IFA

N = 791	Mikroskopie – IFA Giardia pozitivní	Mikroskopie – IFA Giardia negativní
<i>Giardia/Cryptosporidium</i> QUIK CHEK - Giardia pozitivní	181	0
<i>Giardia/Cryptosporidium</i> QUIK CHEK - Giardia negativní	2	608

		95% interval spolehlivosti
Citlivost	98,9%	95,7 - 99,8%
Specifita	100%	99,2 - 100%
Korelace	99,7%	99,7 - 99,7%

Pro diagnostiku *Cryptosporidium* spp.

Následující tabulka uvádí souhrn klinických charakteristik části testu *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK® pro diagnostiku kryptosporidií. *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK® test při srovnání s výsledky mikroskopie IFA (považován a za zlatý standard diagnostiky) dosáhl 100% senzitivity, 99,8% specifity a celkovou korelaci 99,9%.

Souhrnné výsledky – Vlastnosti testu pro diagnostiku kryptosporidií jako součást testu *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK® ve srovnání s fluorescenční mikroskopií – IFA

N = 791	Mikroskopie – IFA Crypto. pozitivní	Mikroskopie – IFA Crypto. negativní
<i>Giardia/Cryptosporidium</i> QUIK CHEK® - Cryptosporidium pozitivní	140	1
<i>Giardia/Cryptosporidium</i> QUIK CHEK® - Cryptosporidium negativní	0	650

		95% interval spolehlivosti
Citlivost	100%	96,7 - 100%
Specifita	99,8%	99,0 - 100%
Korelace	99,9%	100 - 100%

Charakteristiky testu při srovnání s dvěma diagnostickými soupravami (komerčně dostupné testy pro diagnostiku *Giardia* spp. a *Cryptosporidium* spp.) – souhrnné výsledky ze studií Site # 1 a

Site # 2:

Kombinované výsledky měření u studií označených Site # 1 a Site # 2, při porovnání s výsledky získanými provedením dvou komerčně dostupných testů ELISA (určené soupravy pro diagnostiku prvoků *Giardia* a *Cryptosporidium*), ukázaly 99,1% shodu pozitivních výsledků, 99,7% shodu

negativních výsledků a výslednou celkovou shodu výsledků 99,5% u diagnostiky giardií. U diagnostiky kryptosporidií bylo dosaženo 99,2% shody pozitivních výsledků, 99,6% shody negativních výsledků a celkové výsledné shody 99,5%.

Výsledky srovnání testu *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK® Test s komerčně dostupnými testy využívající metodu ELISA pro detekci giardií

N = 849	Komerční test ELISA Giardia pozitivní	Komerční test ELISA Giardia negativní
Giardia/Cryptosporidium QUIK CHEK® - Giardia pozitivní	213	2
Giardia/Cryptosporidium QUIK CHEK® - Giardia negativní	2	632

		95% interval spolehlivosti
Citlivost	99,1%	96,3 – 99,8%
Specifická	99,7%	98,7 – 99,9%
Korelace	99,5%	99,5 – 99,5%

Výsledky srovnání testu *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK® Test s komerčně dostupnými testy využívající metodu ELISA pro detekci kryptosporidií

N = 849	Komerční test ELISA Crypto. pozitivní	Komerční test ELISA Crypto. negativní
Giardia/Cryptosporidium QUIK CHEK® - Cryptosporidium pozitivní	130	3
Giardia/Cryptosporidium QUIK CHEK® - Cryptosporidium negativní	1	715

		95% interval spolehlivosti
Citlivost	99,2%	95,2 – 100%
Specifická	99,6%	98,7 – 99,9%
Korelace	99,5%	99,5 – 99,5%

ANALYTICKÁ CITLIVOST

Analytická citlivost přístroje byla stanovena smísením purifikované směsi cyst giardií či oocyst kryptosporidií o kvantifikovaném množství (určeného nepřímou fluorescenční mikroskopií) s negativními vzorky stolice. Koncentrace cyst giardií a oocyst kryptosporidií ve vzorcích stolice, kde bylo dosaženo 95% pozitivních výsledků testem *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK®, byla použita ke stanovení detekčního limitu testu (LOD). Z výsledků testů byla stanovena hodnota detekčního limitu LOD pro cysty giardií na 6000 na ml stolice (odpovídá počtu 133 zjištěných cyst na test) a 6000 oocyst kryptosporidií na ml stolice (odpovídá počtu 133 zjištěných oocyst na test). Vzhledem k tomu, že test *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK® test kromě celých cyst a oocyst detekuje přímo rozpustný antigen ve vzorcích stolice, tato studie LOD představuje jen odhad analytické citlivosti na základě obsahu směsi purifikovaných cyst giardií a oocyst kryptosporidií. Klinické vzorky stolice obsahují různé množství volného antigenu v poměru k jednotlivým cystám giardií a oocyst kryptosporidií.

REPRODUKOVATELNOST

Celkem u 22 vzorků stolice byla pozitivita stanovena dopředu komerčně dostupnými testy. Vzorky zahrnovaly 6 *Giardia* spp. pozitivních vzorků (tři se středně silnou pozitivitou výsledku), 6 *Cryptosporidium* spp. pozitivních vzorků (tři s nízkým stupněm positivity), 4 *Giardia* spp. i *Cryptosporidium* spp. pozitivních vzorků (z nichž dva s nízkým stupněm positivity *Giardia* spp. pozitivních a dva s nízkým stupněm positivity *Cryptosporidium* spp.) a 6 vzorků s negativitou výsledků detekce obou parazitů. Všechny vzorky byly slepě označeny kódy tak, aby nebyla možná jejich identifikace během testování. Testování bylo provedeno na 3 různých pracovištích.

Vzorky byly na jednotlivých pracovištích opakovaně testovány dvakrát denně po dobu pěti dnů několika laboranty použitím testů pocházejících ze dvou různých šarží. Pozitivní a negativní kontrola byla provedena při každém testování série zaslepených vzorků. Výsledky z jednotlivých laboratoří byly následně předloženy firmě TECHLAB®, Inc a porovnány s výsledky získanými testováním v laboratořích společnosti. Výsledky byly shodné na všech testovaných místech a vykazovaly tedy 100% korelaci. Zároveň byly výsledky testu *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK® u pozitivních vzorků vždy vyhodnoceny jako pozitivní a u negativních vzorků byly vždy vyhodnoceny jako negativní.

ZKŘÍŽENÁ REAKTIVITA

Giardia/Cryptosporidium QUIK CHEK® test byl testován na zkříženou reaktivitu s bakteriálními a virovými kmeny uvedenými níže. Bylo prokázáno, že žádný z vypsanych kmenů nevykazuje zkříženou reaktivitu s testem *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK® testu.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Campylobacter fetus</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Clostridium bif fermentans</i>	<i>Clostridium difficile</i> (kmen 630)
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Escherichia coli</i> ETEC (enterotoxické)
<i>Escherichia coli</i> EPEC (enteropatogenní)	<i>Escherichia coli</i> EIEC (enteroinvasivní)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Shigella sonnei</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowanův kmen)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Lidské Adenoviry 1 a 3	Adenoviry, typ 2, 5, 40 a 41
Lidský Coxsackievirus B2, B3 a B4	Coxsackievirus B5
Lidský Koronavirus	Echovirus 11, 18, 33
Lidský Echovirus 9	Human Paraechovirus 1 (Echovirus 22)
Enterovirus 68, 69	Lidských Enterovirus 70, 71
Lidský Rotavirus	

Giardia/Cryptosporidium QUIK CHEK® test byl testován na vzorcích stolice mikroskopicky prokázaných jako pozitivní na přítomnost jiných parazitů. Nebyla pozorována zkřížená reaktivita v žádném případě. Nebyla pozorována ani zkřížená reaktivita s astroviry a kaliciviry.

<i>Ascaris lumbricoides</i> - vajíčka	<i>Blastocystis hominis</i>
<i>Chilomastix mesnili</i>	<i>Cyclospora cayetanensis</i>

Dientamoeba fragilis
Endolimax nana
Entamoeba hartmanni
Měchovci (*Ancylostoma*, *Necator*) - vajíčka
Trichuris trichiura - vajíčka

Diphyllobothrium latum - vajíčka
Entamoeba coli
Entamoeba histolytica/*E. dispar*
Iodamoeba bütschlii

INTERFERUJÍCÍ LÁTKY (U. S. FORMULACE)

Tyto látky neměly žádný vliv na pozitivní nebo negativní výsledky testů analyzovaných v uvedených koncentracích: prasečí žaludeční hlen (3,5% w/v) lidská krev (40% v/v), síran barnatý (5% w/v), Imodium® (5% V/V), Kaopectate® (5% V/V), Pepto-Bismol® (5% V/V), Kyselina stearová/palmitová (40% w/v), metronidazol (0,25% w/v), vankomycin (0,25% w/v).

KOMPATIBILITA FIXAČNÍCH ROZTOKŮ

Giardia/Cryptosporidium QUIK CHEK® test byl testován na kompatibilitu s fixačních roztoků. Byly testovány fixované fekálních vzorky v rámci laboratorního hodnocení. Žádné snížení citlivosti nebo specifity nebylo pozorováno u vzorků fixovaných v 10% pufovaném formaldehydu, roztoku octanu sodného s formaldehydem (SAF), Cary-Blair nebo C & S fixativ ve srovnání s čerstvými a zmrazenými vzorky.

STANOVENÍ OPAKOVATELNOSTI – přesnost v sérii

Pro stanovení přesnosti v sérii, bylo testováno 6 pozitivních vzorků stolice (dva pozitivní na *Giardia* spp., dva pozitivní na *Cryptosporidium* spp., dva pozitivní na *Giardia* i *Cryptosporidium* spp.) a šest negativních vzorků stolice. Každý vzorek byl analyzován na pěti kazetách. Všechny pozitivní vzorky zůstaly pozitivní a všechny negativní vzorky zůstaly negativní.

STANOVENÍ MEZILEHLÉ PRECIZNOSTI – přesnost mezi sériemi

Pro zjištění přesnosti mezi sériemi, bylo testováno 16 pozitivních fekálních vzorků (šest pozitivních na *Giardia* spp., šest pozitivních na *Cryptosporidium* spp. a čtyři pozitivní na *Giardia* i *Cryptosporidium* spp.) a šest negativních fekálních vzorků, bylo analyzováno dvakrát denně po dobu čtyř dnů, pomocí *Giardia/Cryptosporidium* QUIK CHEK soupravy. Všechny pozitivní vzorky zůstaly pozitivní a všechny negativní vzorky zůstaly negativní.

REFERENCES

1. Erlandsen, L. S. and E. A. Meyer (Ed.). 1984. *Giardia* and giardiasis: biology, pathogenesis, and epidemiology. Plenum Press, New York.
2. World Health Organization Scientific Working Group. 1980. Parasite-related diarrhoeas. Bull W.H.O. 58:819-830
3. Petersen, H. 1972. Giardiasis (lambliasis). Scand. J. Gastroenterol. 7 (Suppl 14):1-44.
4. Craun, G. F. 1979. Waterborne outbreaks of giardiasis. In Jakubowski, W., J. Hoff (Ed.), Waterborne transmission of giardiasis. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., pp. 127-149.
5. Brodsky, R. E., H. C. Spencer, and M. G. Schultz. 1974. Giardiasis in American travelers to the Soviet Union. J. Infect. Dis. 130:319-23.
6. White, K. E., C. W. Hedberg, L. M. Edmons, D. B. W. Jones, M. T. Osterholm, and K. L. MacDonald. 1989. An outbreak of giardiasis in a nursing home with evidence for multiple modes of transmission. J. Infect. Dis. 160:298-304.
7. Pickering, L. K., W. E. Woodward, H. L. DuPont, and P. Sullivan. 1984. Occurrence of *Giardia lamblia* in day care centers. J. Ped. 104:522-526.
8. Stevens, D. P., and A. A. Mahmoud. 1980. Giardiasis: the rediscovery of an ancient pathogen. Curr. Clin. Top. In Infect. Dis. 1:195-207.
9. Phillips, S. C., D. Mildvan, and D. C. Williams. 1981. Sexual transmission of enteric protozoa and helminths in a venereal disease clinic population. New Eng. J. Med. 305:603-606.

10. Friend, D. S. 1966. The fine structure of *Giardia muris*. J. Cell Biol. 29:317-332.
11. Faubent, G. M. 1988. Evidence that giardiasis is a zoonosis. Parasitol. Today 4:66-89.
12. Raizman, R. E., 1976. Giardiasis: an overview for the clinician. Digest. Dis. 21:70-74.
13. Kay, R., G. L. Barnes, and R. R. W. Townley. 1977. *Giardia lamblia* infestation in 154 children. Aust. Paed. J. 13:98-104.
14. Fayer, R. and L. P. Ungar. 1986. *Cryptosporidium* spp and Cryptosporidiosis. Micro. Rev. 50:458-483.
15. Meisel, J. L., D. R. Perera, C. Meligro, and C. E. Rubin. 1976. Overwhelming watery diarrhea associated with *Cryptosporidium* in an immunosuppressed patient. Gastroenterology 70:1156-60.
16. Sterling, C. R. 1986. *Cryptosporidium* as a causative agent of travellers' diarrhoea. J. Infect. Dis. 153:380-1.
17. Alpert, G., L. M. Bell, C. E. Kirkpatrick, L. D. Budnick, J. M. Campos, H. M. Friedman, and S. A. Plotkin. 1984. Cryptosporidiosis in a day-care centre. New Eng. J. Med. 311:860-1.
18. Pitlik, S. D., V. Fainstein, D. Garza, R. Bolivar, A. Rios, R. L. Hopfer, and P. A. Mansell. 1983. Human cryptosporidiosis: spectrum of disease (1983). Arch. Intern. Med. 143:2269-74.
19. Current, W. L. 1989. Cryptosporidiosis. In: New Strategies in Parasitology. (Ed. K. P. W. J. McAdam) Churchill Livingstone pp 257-73.
20. Hayes, E. B., T. D. Matter, T. R. O'Brien, T. W. McKinley, G. S. Logsdon et al. 1989. Large community outbreak of Cryptosporidiosis due to contamination of a filtered public water supply. New Eng. J. Med. 320:1372-76.
21. Badenoch, J. 1990. *Cryptosporidium* in water supplies. London H.M.S.O. pp 37-45.
22. Angus, K. W. 1990. Cryptosporidiosis and AIDS. Clinical Gastroenterol. 4:425-41.
23. Fayer, R. 1997. *Cryptosporidium* and Cryptosporidiosis. CRC Press, New York.

Technická podpora

Linka pomoci:

Další informace můžete získat od svého lokálního distributora nebo kontaktujte Alere Technickou podporu:

US	+ 1 877 866 9335	TS.SCR@alere.com
Afrika, Rusko, CIS	+972 8 9429 683	ARCISproductsupport@alere.com
Asia Pacifik	+61 7 3363 7711	APproductsupport@alere.com
Canada	+1 800 818 8335	CANproductsupport@alere.com
Europe & Middle East	+44 161 483 9032	EMEproductsupport@alere.com
Latinská Amerika	+57 01800 094 9393	LAproductsupport@alere.com

Vyvinuto a vyrobeno firmou:



TECHLAB®, Inc.
2001 Kraft Drive
Blacksburg, VA 24060-6358, USA



Emergo Europe
Molenstraat 15
2513 BH The Hague
The Netherlands

Distribuce:



Alere North America, Inc.
30 South Keller Road
Orlando, Florida 32810
TEL 1-877-441-7440
1-321-441-7200 OUTSIDE USA

**Alere Logo a Alere jsou značky skupiny Alere.
TECHLAB® je značka TECHLAB, Inc. licence.**

© 2011 TECHLAB®, Inc. Všechna práva rezervována.

RMS kód #91-407-01

Vydáno: 11/2011