

GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™

A Rapid Membrane Enzyme Immunoassay for the Simultaneous Qualitative Detection and Differentiation of *Giardia* Cyst Antigen and *Cryptosporidium* Oocyst Antigen in Human Fecal Specimens

Catalog No. T30407 (25 Tests)

IVD *In Vitro* Diagnostic Medical Device

For Canadian Users: For Laboratory Use Only

ESPAÑOL p. 12

Inmunoensayo enzimático rápido de membrana para la detección cualitativa y la diferenciación simultáneas del antígeno de quiste de *Giardia* y el antígeno de ovoquiste

de *Cryptosporidium* en muestras fecales humanas

Prod. No. T30407 (25 Tests)

IVD Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

DEUTSCH p. 23

Ein Membranenzymimmunoassay-Schnelltest für den gleichzeitigen qualitativen Nachweis und die Differenzierung von *Giardia*-Zysten-Antigen und *Cryptosporidium*-Oozysten-Antigen in menschlichen Stuhlproben

Katalognummer. T30407 (25 Tests)

IVD *In-Vitro*-Diagnostikum

FRANÇAISE p. 35

Test immunoenzymatique sur membrane rapide pour la détection et la différenciation qualitatives simultanées de l'antigène des kystes de *Giardia* et de l'antigène des oocystes

de *Cryptosporidium* dans les échantillons de selles humaines.

Numéro de Catalogue T30407 (25 Tests)

IVD Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

Pour les utilisateurs canadiens: Pour usage en laboratoire seulement

U.S. Patent No. 8,343,726

Made in the USA

Developed and Manufactured by:



TECHLAB®

2001 Kraft Drive

Blacksburg, VA 24060-6358 USA

www.techlab.com

TEL 1-800-832-4522 USA

TEL 1-540-953-1664 Outside USA



EC REP Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™

INTENDED USE

The *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* test is a rapid membrane enzyme immunoassay for the simultaneous qualitative detection and differentiation of *Giardia* cyst antigen and *Cryptosporidium* oocyst antigen in a single test device. It is intended for use with human fecal specimens from patients with gastrointestinal symptoms to aid in the diagnosis of *Giardia* and/or *Cryptosporidium* gastrointestinal infection. The test results should be considered in conjunction with the patient history.

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

EXPLANATION

Giardia spp. is a binucleated flagellated protozoan parasite which exists in two forms: a noninfectious, pear-shaped trophozoite (9 to 20 µm) inhabiting the small intestine, and the highly infectious cyst form which is elliptical in shape and ranges in size from 8 to 12 µm (1). Survival outside its host varies greatly between the two forms: the trophozoite which is extremely labile, lasts only a matter of hours outside the body, while the cyst form may survive for several days in external environments (1). Travelers have been found to contract giardiasis from endemic areas, specifically contaminated water (2-5). Transmission also occurs by direct contact especially by asymptomatic carriers and by food contamination (6-7). High-risk individuals include young children, immunocompromised patients and those without previous exposure (8). More recently, giardiasis has become a common sexually transmitted disease (9). Animal fecal contamination especially of water is another route of transmission in humans (4, 10, 11). Clinical manifestations of giardiasis range from asymptomatic carriage with the passing of cysts to chronic debilitating diarrhea, weight loss and malabsorption (8,12,13).

Cryptosporidium spp. is a protozoan parasite of vertebrates previously thought to cause diarrhea only in animals (14). In 1976, the first human infection was reported (15). Subsequently it has been found to be associated with diarrheal illness world-wide and is a frequent cause of traveler's diarrhea (14,16). The disease is transmitted by the thick-walled oocyst form, 2-6µm in diameter, which is remarkably resistant to common disinfectants and routine chlorination of drinking water. Person-to-person transmission, especially among children, is common (17). *Cryptosporidium* has little to no host specificity and animals such as rodents, cattle, and domestic pets serve as a reservoir for zoonotic transmission to humans (14,18). This occurs either by direct contact or by contamination of water supplies with fecal matter (14,19-21). Cryptosporidiosis is a serious opportunistic infection in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and is potentially a sexually transmitted disease (19,22). Clinical manifestations of cryptosporidiosis include cholera-like diarrhea, abdominal pain, nausea, vomiting, and weight loss. In normal persons the infection is usually self-limiting and short term. In AIDS and immunosuppressed patients, cryptosporidiosis can result in prolonged and life-threatening illness due to excessive fluid loss. In these patients the infection may also spread to the respiratory and biliary tracts (19).

PRINCIPLE OF THE TEST

The *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* test uses monoclonal and polyclonal antibodies to cell-surface antigens of the organisms. The device contains a *Reaction Window* with three vertical lines of immobilized antibodies. The *Giardia* test line ("Giar") contains mouse monoclonal antibodies against *Giardia*. The *Crypto* test line ("Cryp") contains mouse monoclonal antibodies against *Cryptosporidium*. The control line ("C") is a dotted line that contains anti-horseradish peroxidase (HRP) antibodies. The *Conjugate* consists of polyclonal antibodies coupled to horseradish peroxidase. To perform the test, the sample is added to a tube containing a mixture of *Diluent* and *Conjugate*. The diluted sample-conjugate mixture is added to the *Sample Well* and the device is allowed to incubate at room temperature for 15 minutes. During the incubation, cyst and/or oocyst

antigens in the sample bind the antibody-peroxidase conjugates. The antigen-antibody-conjugate complexes migrate through a filter pad to a membrane where they are captured by the immobilized *Giardia* and/or *Cryptosporidium*-specific antibodies in the test lines. The *Reaction Window* is subsequently washed with *Wash Buffer*, followed by the addition of *Substrate*. After a 10 minute incubation period, the reaction is examined visually for the appearance of a vertical blue line on either side of the *Reaction Window*. A blue line indicates a positive test. A positive “control” reaction, indicated by a vertical dotted blue line under the “C” portion of the *Reaction Window*, confirms that the test is working properly and the results are valid.

MATERIALS PROVIDED

| | |
|------------|---|
| MEM DEV | Membrane Devices – each pouch contains 1 device |
| DIL SPE | Diluent (20 mL) – Buffered protein solution with graduated dropper assembly* |
| WASH REAG | Wash Buffer (12 mL) – Buffered solution with graduated dropper assembly* |
| SUBS REAG | Substrate (3.5 mL) – Solution containing tetramethylbenzidine |
| CONJ ENZ | Conjugate (2.0 mL) – Polyclonal antibody to a cell-surface antigen of <i>Giardia</i> coupled to horseradish peroxidase and a polyclonal antibody to a cell-surface antigen of <i>Cryptosporidium</i> coupled to horseradish peroxidase in a buffered protein solution* |
| CONTROL + | Positive Control (2.5 mL) – Inactivated <i>Giardia</i> and <i>Cryptosporidium</i> antigens in a buffered protein solution* |

Disposable plastic pipettes – graduated at 25 μ L, 100 μ L, 200 μ L, 300 μ L, 400 μ L, and 500 μ L

*contains 0.05% ProClin® 300

Signal Word: Warning

H317:May cause an allergic skin reaction

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

| | |
|---|--------------------------|
| <i>Small test tubes (e.g., plastic Eppendorf tubes)</i> | <i>Applicator sticks</i> |
| <i>Timer</i> | <i>Vortex mixer</i> |
| <i>Disposable gloves for handling fecal samples</i> | <i>Pipettor and tips</i> |

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date of the kit is given on the label. Expiration dates for each component are listed on the individual labels. The kit should be stored between 2° and 8°C.

PRECAUTIONS

1. Rx - Prescription Only
2. For *in vitro* diagnostic use. For professional use only.
3. Each component in the kit should be inspected for any signs of leakage. Upon arrival, inspect the kit to ensure that components are not frozen or warm to the touch due to improper shipping conditions.
4. The *Substrate* reagent should be colorless. If the *Substrate* reagent changes to a dark blue/violet color, discard and call technical services for replacement.
5. Reagents from different kits should not be mixed. Do not use a kit past the expiration date.
6. Caps, tips, and dropper assemblies are color-coded; do NOT mix or interchange!
7. Bring all components to ROOM TEMPERATURE BEFORE USE!
8. Do not freeze the reagents. The kit should be stored between 2°C and 8°C.
9. The pouch containing the *Membrane Device* should be at room temperature before opening. Keep the *Membrane Devices* dry before use.
10. Hold reagent bottles vertically to dispense reagents to ensure consistent drop size and correct volume.
11. Microbial contamination of reagents may decrease the accuracy of the assay. Avoid microbial contamination of reagents by using sterile disposable pipettes if removing aliquots from reagent bottles.
12. *Membrane Devices* cannot be reused.

13. The test has been optimized for sensitivity and specificity. Alterations of the specified procedure and/or test conditions may affect the sensitivity and specificity of the test. Do not deviate from the specified procedure.
14. Be attentive to the total assay time when testing more than one fecal specimen. Add *Diluent* first, and then add the *Conjugate* to each tube of *Diluent*. Then add specimen to the tube of *Diluent/Conjugate*. Thoroughly mix all of the diluted specimens, and transfer to the *Membrane Device*. The 15-minute incubation step begins after the last diluted sample-conjugate mixture has been transferred to the *Membrane Device*.
15. Do not concentrate specimens before testing.
16. Use fresh fecal specimens within 72 hours of collection to obtain optimal results. Specimens that are frozen may lose activity due to freezing and thawing. If using frozen specimens, thaw at room temperature.
17. This test has been shown to be compatible with specimens preserved in 10% formalin, sodium acetate formalin, and transport media such as Cary Blair or C&S when following the "Sample Preparation" guidelines listed in this Package Insert. However, the test has not been proven compatible with other preservatives and transport media.
18. Specimens and *Membrane Devices* should be handled and disposed of as potential biohazards after use. Wear disposable gloves when doing the test.
19. Fecal specimens may contain potentially infectious agents and should be handled at "Biosafety Level 2" as recommended in the CDC/NIH Manual, "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories."
20. The *Conjugate*, *Diluent*, *Positive Control*, and *Wash Buffer* reagents contain 0.05% ProClin® 300 as a preservative. Although the concentration is low, ProClin® 300 is known to be harmful (skin sensitization may occur). If skin sensitization/irritation or rash occurs, get medical advice/attention. Take off contaminated clothing and wash it before reuse. Handle reagents according to existing regulations for laboratory safety and good laboratory practice. Safety Data Sheets for this product are available upon request, contact technical support.
21. Follow your national, regional, and local ordinances accordingly for waste disposal regulations.

COLLECTION AND HANDLING OF FRESH FECAL SPECIMENS

Specimens collected for routine ova and parasite examination can be used with the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* test. Fecal specimens should be collected in clean, leak-proof containers.

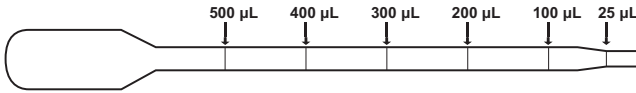
1. Standard collection and handling procedures used in-house for fecal specimens are appropriate.
2. Fresh, untreated specimens should be stored between 2° and 8°C. Test fresh specimens that are less than 72 hours old, whenever possible. Store fresh specimens frozen ($\leq -10^{\circ}\text{C}$) for up to 90 days if the test cannot be performed within 72 hours of collection, but note that freezing and thawing of the specimen may result in loss of activity due to degradation of the antigen. Avoid multiple freeze-thaw cycles. If using frozen specimens, thaw at room temperature.
3. Fecal specimens that have been concentrated or treated with PVA fixatives are not suitable for use with this test.
4. Make sure that specimens are thoroughly mixed PRIOR to performing the assay.
5. Storing fecal specimens in the *Diluent* is NOT recommended.

SAMPLE PREPARATION

1. Bring all reagents and the required number of devices to room temperature before use.
2. Set up and label one small test tube for each specimen and optional external controls as necessary.
3. Using the gray graduated dropper assembly, add 500 μL (2nd graduation from the tip) *Diluent* to each tube for fecal specimens. For specimens in fixative or transport media such as 10% formalin, add 400 μL of *Diluent* to the tube. For external controls add 400 μL of *Diluent* to each tube.

- Add one drop of *Conjugate* (red capped bottle) to each tube.
- Obtain one disposable plastic transfer pipette (supplied with the kit) for each sample – the pipettes have raised graduations at 25 μL , 100 μL , 200 μL , 300 μL , 400 μL , and 500 μL .

Graduated Transfer Pipette:



- Mix all specimens thoroughly regardless of consistency – it is essential that the specimens be evenly suspended before transferring.

Liquid/Semi-solid specimens – pipette 25 μL of specimen with a transfer pipette (graduated at 25 μL , 100 μL , 200 μL , 300 μL , 400 μL , and 500 μL) and dispense into the *Diluent/Conjugate* mixture. Use the same transfer pipette to mix the diluted specimen.

Formed/Solid specimens – Care must be taken to add the correct amount of formed feces to the sample mixture. Mix the specimen thoroughly using a wooden applicator stick and transfer a small portion (approximately 2 mm diameter, the equivalent of 25 μL) of the specimen into the *Diluent/Conjugate* mixture. Emulsify the specimen using the applicator stick.

Fecal specimens in fixative or transport media – pipette 100 μL (2 drops from transfer pipette) of sample into the *Diluent/Conjugate* mixture.
- Optional External Control Samples:**

External Positive Control – add four drops of *Positive Control* (gray-capped bottle) to the appropriate test tube containing *Diluent*.

External Negative Control - add 100 μL *Diluent* to the appropriate test tube containing *Diluent*.

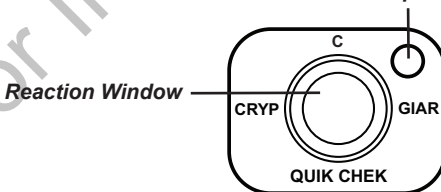
NOTE: Transferring too little specimen, or failure to mix and completely suspend the specimen in the *Diluent/Conjugate* mixture, may result in a false-negative test result. The addition of too much fecal specimen may cause invalid results due to restricted sample flow.

TEST PROCEDURE

- Obtain one *Membrane Device* per specimen, and one *Membrane Device* per optional external positive or negative control as necessary. The foil bags containing the devices should be brought to room temperature before opening. Use the device immediately after opening. Label each device appropriately and orient it on a flat surface so the “QUIK CHEK” print is located at the bottom of the device, and the small *Sample Well* is located in the top right corner of the device.

Membrane Device

Sample Well



- Close each tube of diluted specimen and mix thoroughly. Proper mixing can be achieved by vortexing or inverting the tube. Once a patient sample or *Positive Control* has been diluted in the *Diluent/Conjugate* mixture, it may be incubated at 2 - 8°C for any period of time up to 24 hours prior to addition to the *Membrane Device*.
- Using a new transfer pipette, transfer 500 μL of the diluted sample-conjugate mixture into the **Sample Well** (smaller hole in the top right corner of the device) of a *Membrane Device*, making certain to expel the liquid sample onto the wicking pad inside of the *Membrane Device*. When loading the sample into the sample well, make sure that the tip of the transfer pipette is angled towards the *Reaction Window* (larger hole in the middle of the device).

- 6
4. Incubate the device at room temperature for 15 minutes – the sample will wick through the device and a wet area will spread across the *Reaction Window*.

NOTE FOR SAMPLES THAT FAIL TO MIGRATE:

Occasionally, a diluted fecal specimen clogs the membrane and the Reaction Window does not wet properly. This is ordinarily due to the addition of too much fecal specimen to the sample Diluent. If the diluted fecal specimen fails to migrate properly within 5 minutes of adding the sample to the Sample Well (i.e. the membrane in the Reaction Window does not appear to be completely wet), then add 100 µL (4 drops) of Diluent to the Sample Well and wait an additional 5 minutes (for a total of 20 minutes). If the specimen still fails to migrate, retest the specimen.

5. After the incubation, add 300 µL of *Wash Buffer* to the **Reaction Window** using the graduated white dropper assembly (or equivalent). Allow the *Wash Buffer* to flow through the *Reaction Window* membrane and be absorbed completely.
6. Add 2 drops of *Substrate* (white-capped bottle) to the **Reaction Window**. Read and record results visually after 10 minutes.

INTERPRETATION OF RESULTS

1. Interpretation of the test is most reliable when the device is read immediately at the end of the reaction period. Read the device at a normal working distance in a well-lit area. View with a line of vision directly over the device. A positive result may be interpreted at any time between the addition of *Substrate* and the 10-minute read time. However, a test cannot be interpreted as negative or invalid until the 10 minutes following the addition of the *Substrate* has been completed.
2. Observe the device for the appearance of blue dots in the middle of the *Reaction Window* representing the internal positive control. Observe device for the appearance of blue lines on either side of the control dots (*Giardia* on the right, *Cryptosporidium* on the left). Lines may appear faint to dark in intensity.
3. **Positive *Giardia* Result (Fig. 1b, Fig. 1c):** The control dots and the *Giardia* line (on the right side of the *Reaction Window*) are visible. The lines may appear faint to dark in intensity - any blue line on the right side of control dots is considered positive. Do not interpret membrane discoloration as a positive result. A positive result indicates the presence of *Giardia* antigen and a properly reactive positive control line.
4. **Positive *Cryptosporidium* Result (Fig. 1b, Fig. 1d):** The control dots and the *Cryptosporidium* line (on the left side of the *Reaction Window*) are visible. The lines may appear faint to dark in intensity - any blue line on the left side of control dots is considered positive. Do not interpret membrane discoloration as a positive result. A positive result indicates the presence of *Cryptosporidium* antigen and a properly reactive positive control line.
5. **Negative Result (Fig. 1a):** Only the control dots in the middle of the *Reaction Window* are visible. No lines are visible. A negative result indicates that *Giardia* and *Cryptosporidium* antigen are either not present in the sample, or are below the detectable limits of this test.
6. **Invalid Result (Fig. 1e-1h):** The test is invalid if the control dots are not present at the completion of the reaction period (Figures 1e-1h).

FIGURE 1: GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ INTERPRETATION OF RESULTS

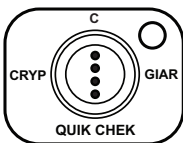


Figure 1a
Negative Result

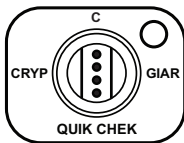


Figure 1b
Positive *Giardia* and
Cryptosporidium Result

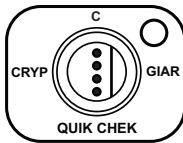


Figure 1c
Positive *Giardia*
Result

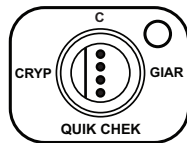


Figure 1d
Positive *Cryptosporidium*
Result

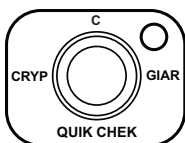


Figure 1e
Invalid Result

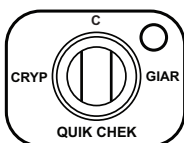


Figure 1f
Invalid Result

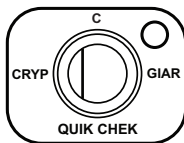


Figure 1g
Invalid Result

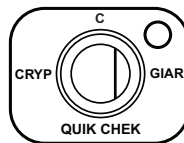


Figure 1h
Invalid Result

QUALITY CONTROL

Internal: A dotted blue line must be visible in the middle of the *Reaction Window*, below the “C” on every *Membrane Device* that is tested. The appearance of the blue control dots confirms that the sample and reagents were added correctly, that the reagents were active at the time of performing the assay, and that the sample migrated properly through the *Membrane Device*. A clear background in the result area is considered an internal negative control. If the test has been performed correctly and reagents are working properly, the background will be white to give a discernable result.

External: The reactivity of the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* kit should be verified upon receipt using the *Positive Control* and negative control (*Diluent*). The *Positive Control* is supplied with the kit (gray-capped bottle). The *Positive Control* confirms the reactivity of the other reagents associated with the assay. *Diluent* is used for the negative control. Additional tests can be performed with the controls to meet the requirements of local, state, and/or federal regulations and/or accrediting organizations.

LIMITATIONS

1. The *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* test is used to detect *Giardia* and/or *Cryptosporidium* in fecal specimens. The test confirms the presence of antigen in feces and this information should be taken under consideration by the physician in light of the clinical history and physical examination of the patient.
2. Fecal specimens are extremely complex. Optimal results with the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* test are obtained with specimens that are less than 72 hours old. Most undiluted fresh specimens can be stored between 2°C and 8°C for 72 hours before degradation of the antigen is noted. If specimens are not assayed within this time period, they may be frozen for up to 90 days and thawed. However, repeated freezing and thawing may result in loss in the immunoreactivity of antigen.
3. Some specimens may give weak reactions. This may be due to a number of factors such as the presence of low levels of antigen, the presence of binding substances, or inactivating enzymes in the feces. *Under these conditions, a fresh specimen should be tested.*
4. The *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* test is qualitative. The intensity of the color should not be interpreted quantitatively.
5. The use of concentrated fecal specimens has not been evaluated.

EXPECTED VALUES

Normal healthy individuals should not be infected with *Giardia* or *Cryptosporidium* and should test negative in the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* test. A positive test result in the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* test indicates that the person is shedding detectable amounts of *Giardia* and/or *Cryptosporidium* antigen. The incidence of *Giardia* and *Cryptosporidium* infection varies significantly between populations and geographic regions. Children in daycare settings have exhibited higher rates of infection with *Giardia* than the normal population (21). In addition, homosexual men have shown higher rates of infection (22). In general, laboratory-confirmed incidence of cryptosporidiosis in developed countries ranges from 1 to 2% overall with a higher incidence in children (23).

Prospective studies to evaluate the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[™] test were conducted at an Asian hospital specializing in diarrheal diseases. The studies included 129 freshly collected fecal specimens. A positive test result in the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[™] test was obtained in 22.5% for *Giardia* and in 5.4% for *Cryptosporidium* antigen.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance of the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[™] test was evaluated at 3 geographically diverse sites. At Site #1 and Site #3 the performance of the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[™] test was compared to Microscopy (IFA) and included 220 fresh, 140 frozen, 216 preserved-formalin, and 215 preserved-SAF. At Site #1 and Site #2 the performance of the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[™] test was compared to two commercially available ELISAs (predicate devices for *Giardia* and *Cryptosporidium*) and included 349 fresh, 322 frozen, 36 preserved-formalin, and 142 preserved-SAF.

Performance as compared to Microscopy (IFA) - Combined Results for Study Sites #1 and #3:

For *Giardia* spp.

The following table shows a summary of the clinical performance of the *Giardia* portion of the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[™] test. The results show that the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[™] test exhibited a sensitivity of 98.9%, a specificity of 100%, and an overall correlation of 99.7% with Microscopy – IFA (considered the gold standard).

Combined Results - Clinical Performance Comparing the *Giardia* Line of the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[™] Test to Microscopy – IFA

| N = 791 | Microscopy - IFA <i>Giardia</i> positive | Microscopy - IFA <i>Giardia</i> negative |
|--|---|---|
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK</i> [™] - <i>Giardia</i> Line Positive | 181 | 0 |
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK</i> [™] - <i>Giardia</i> Line Negative | 2 | 608 |

| | | 95% Confidence Limits |
|-------------|-------|-----------------------|
| Sensitivity | 98.9% | 95.7 – 99.8% |
| Specificity | 100% | 99.2 – 100% |
| Correlation | 99.7% | 99.7 – 99.7% |

For *Cryptosporidium* spp.

The following table shows a summary of the clinical performance of the *Cryptosporidium* portion of the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[™] test. The results show that the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK*[™] test exhibited a sensitivity of 100%, a specificity of 99.8%, and an overall correlation of 99.9% with Microscopy – IFA (considered the gold standard).

Combined Results - Clinical Performance Comparing the *Cryptosporidium* Line of the GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ Test to Microscopy – IFA

| N = 791 | Microscopy - IFA <i>Crypto.</i> positive | Microscopy - IFA <i>Crypto.</i> negative |
|---|---|---|
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ - <i>Cryptosporidium</i> Line Positive | 140 | 1 |
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ - <i>Cryptosporidium</i> Line Negative | 0 | 650 |

| | | 95% Confidence Limits |
|-------------|-------|-----------------------|
| Sensitivity | 100% | 96.7 – 100% |
| Specificity | 99.8% | 99.0 – 100% |
| Correlation | 99.9% | 100 – 100% |

Performance as Compared to Two Predicate Devices (commercially available devices for *Giardia* and *Cryptosporidium*) - Combined Results for Study Site #1 and Site #2:

The combined results of our performance evaluations at Study Site #1 and #2 as compared to two commercially available ELISAs (predicate devices for *Giardia* and *Cryptosporidium*) exhibited a 99.1% agreement for *Giardia* positive specimens, a 99.7% agreement for *Giardia* negative specimens, with an overall agreement of 99.5%. The test exhibited a 99.2% agreement for *Cryptosporidium* positive specimens, 99.6% agreement for *Cryptosporidium* negative specimens, and an overall agreement of 99.5%.

GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ test *Giardia* Line versus the Commercial ELISA for *Giardia* Detection

| N = 849 | Commercial ELISA - <i>Giardia</i> positive | Commercial ELISA - <i>Giardia</i> negative |
|---|---|---|
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ - <i>Giardia</i> Line Positive | 213 | 2 |
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ - <i>Giardia</i> Line Negative | 2 | 632 |

| | | 95% Confidence Limits |
|-------------|-------|-----------------------|
| Sensitivity | 99.1% | 96.3 – 99.8% |
| Specificity | 99.7% | 98.7 – 99.9% |
| Correlation | 99.5% | 99.5 – 99.5% |

GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ test *Cryptosporidium* Line versus the Commercial ELISA for *Cryptosporidium* Detection

| N = 849 | Commercial ELISA - <i>Cryptosporidium</i> positive | Commercial ELISA - <i>Cryptosporidium</i> negative |
|---|--|--|
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ - <i>Cryptosporidium</i> Line Positive | 130 | 3 |
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ - <i>Cryptosporidium</i> Line Negative | 1 | 715 |

| | | 95% Confidence Limits |
|-------------|-------|-----------------------|
| Sensitivity | 99.2% | 95.2 – 100% |
| Specificity | 99.6% | 98.7 – 99.9% |
| Correlation | 99.5% | 99.5 – 99.5% |

ANALYTICAL SENSITIVITY

The analytical sensitivity of the device was determined by spiking purified *Giardia* cysts or *Cryptosporidium* oocysts quantified by immunofluorescent antibody microcopy (IFA) into negative human fecal specimens. The concentration of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in fecal matrix where specimens were positive by the GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ test 95% of the time were utilized to describe the assay limit-of-detection (LOD). Test results determined the LOD for the assay to be 6000 cysts/mL of feces for *Giardia* (equivalent to 133 cysts detected per test) and 6000 oocysts/mL feces for *Cryptosporidium* (equivalent to 133 oocysts detected per test). Because the GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ test detects soluble antigen in fecal specimens in addition to cysts and oocysts, this LOD study represents an estimate of analytical sensitivity based on purified *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts. Clinical specimens contain varying amounts of free antigen per *Giardia* cyst or *Cryptosporidium* oocyst.

REPRODUCIBILITY

A total of 22 fecal specimens were pre-characterized by commercially available predicate devices. The samples included 6 *Giardia*-positive specimens (3 mid-range positives), 6 *Cryptosporidium*-positive specimens (3 low positives), and 4 *Giardia/Cryptosporidium*-positive specimens (2 of which were low *Giardia*-positives and 2 of which were low *Cryptosporidium*-positives), and 6 specimens negative for both parasites. All specimens were coded to prevent their identification during testing. Testing was performed at 3 sites. The samples were tested, twice a day over a 5-day period by multiple technicians at each site using 2 different kit lots. A positive and negative control was run with each panel of the masked samples. The results from each laboratory were subsequently submitted to TECHLAB, Inc. and compared with in-house results. The results were consistent among the different locations, and exhibited a correlation of 100%. The positive specimens consistently tested positive and the negative specimens consistently tested negative at all sites using the GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ test.

CROSS REACTIVITY

The GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ test was evaluated for cross-reactivity with the bacterial and viral strains listed below. None of the strains were shown to cross-react with the GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ test.

Aeromonas hydrophila
Bacillus subtilis

Bacillus cereus
Bacteroides fragilis

Campylobacter coli
Campylobacter jejuni
Clostridium bifermentans
Enterococcus faecalis
Escherichia coli O157:H7
Escherichia coli EPEC (enteropathogenic)
Klebsiella pneumoniae
Shigella dysenteriae
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus (Cowan's)
Vibrio parahaemolyticus

Campylobacter fetus
Candida albicans
Clostridium difficile (strain 630)
Escherichia coli
Escherichia coli ETEC (enterotoxigenic)
Escherichia coli EIEC (enteroinvasive)
Salmonella typhimurium
Shigella flexneri
Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Yersinia enterocolitica

Human Adenovirus 1 and 3
 Human Coxsackievirus B2, B3, and B4
 Human Coronavirus
 Human Echovirus 9
 Enterovirus 68, 69
 Human rotavirus

Adenovirus, Type 2, 5, 40 and 41
 Coxsackievirus B5
 Echovirus 11, 18, 33
 Human parainfluenza virus 1 (Echovirus 22)
 Human Enterovirus 70, 71

Additionally, the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* test was run on fecal specimens documented to be positive for other parasites by microscopy. No cross-reactivity was seen with the following organisms for either the *Giardia*-portion or the *Cryptosporidium*-portion of the test. Cross-reactivity to Astrovirus and Caliciviruses has not been established.

Ascaris lumbricoides eggs
Chilomastix mesnili
Dientamoeba fragilis
Endolimax nana
Entamoeba hartmanni
 Hookworm eggs
Trichuris trichiura eggs

Blastocystis hominis
Cyclospora cayentanensis
Diphyllobothrium latum eggs
Entamoeba coli
Entamoeba histolytica/E. dispar
Iodamoeba bütschlii

INTERFERING SUBSTANCES (U.S. Formulations)

The following substances had no effect on positive or negative test results analyzed at the concentrations indicated: Hog gastric mucin (3.5% w/v), Human blood (40% v/v), Barium sulfate (5% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Steric/Palmitic Acid (40% w/v), Metronidazole (0.25% w/v), Vancomycin (0.25% w/v).

SPECIMEN PRESERVATIVE COMPATIBILITY

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

PRECISION – INTRA-ASSAY

For the determination of intra-assay performance, 6 positive fecal specimens (two positive for *Giardia*, two positive for *Cryptosporidium*, two positive for both *Giardia* and *Cryptosporidium*) and six negative fecal specimens were analyzed. Each specimen was assayed on 5 cassettes. All positives remained positive and all negatives remained negative.

PRECISION – INTER-ASSAY

For the determination of inter-assay performance, 16 positive fecal specimens (six positive for *Giardia*, six positive for *Cryptosporidium*, and four positive for both *Giardia* and *Cryptosporidium*) and six negative fecal specimens were assayed twice a day over a four-day period using the *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* kit. All positives remained positive and all negatives remained negative.

USO PREVISTO

La prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* es un inmunoensayo enzimático rápido de membrana para la detección cualitativa y la diferenciación simultáneas del antígeno de quiste de *Giardia* y del antígeno de ovoquiste de *Cryptosporidium* en un único dispositivo de prueba. Está pensada para su uso con muestras fecales humanas de pacientes con síntomas gastrointestinales para ayudar a diagnosticar la infección gastrointestinal por *Giardia* y/o por *Cryptosporidium*. Los resultados de las pruebas deben evaluarse junto con la historia clínica del paciente.

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

FUNDAMENTO

Las especies de *Giardia* son protozoos parásitos flagelados binucleados que existen en dos formas: un trofozoito no infeccioso con forma de pera (9 a 20 µm) que habita en el intestino delgado y la forma de quiste, altamente infecciosa, con forma elíptica y un tamaño de 8 a 12 µm (1). La supervivencia fuera del hospedador varía en gran medida entre ambas formas: el trofozoito, que es extremadamente lábil, sólo vive algunas horas fuera del organismo, mientras que el quiste puede sobrevivir durante varios días en ambientes externos (1). Se ha observado que los viajeros contraen la giardiasis en áreas endémicas, concretamente por agua contaminada (2-5). La transmisión también ocurre por contacto directo, especialmente a partir de portadores asintomáticos y por alimentos contaminados (6-7). Las personas de alto riesgo incluyen a los niños, los pacientes inmunocomprometidos y aquellas personas que han tenido una exposición anterior (8). Más recientemente, la giardiasis se ha convertido en una enfermedad de transmisión sexual común (9). La contaminación fecal animal, especialmente del agua, es otra vía de transmisión en seres humanos (4,10,11). Las manifestaciones clínicas de giardiasis abarcan desde los portadores asintomáticos con emisión de quistes a las diarreas debilitantes crónicas, pérdida de peso y malabsorción (8,12,13).

Las especies de *Cryptosporidium* son protozoos parásitos de vertebrados; anteriormente se pensaba que causaban diarrea sólo en animales (14). En 1976 se notificó el primer caso de infección en seres humanos (15). Posteriormente, se ha observado que se asocian a enfermedad diarreica en todo el mundo y son una causa frecuente de diarrea de los viajeros (14,16). La enfermedad se transmite por el ovoquiste de pared gruesa, de 2-6 µm de diámetro, que presenta una gran resistencia a los desinfectantes comunes y la cloración rutinaria del agua potable. La transmisión persona a persona, especialmente entre niños, es común (17). El *Cryptosporidium* tiene poca o nula especificidad por el hospedador y animales como roedores, vacas y mascotas domésticas sirven como reservorio para la transmisión zoonótica a seres humanos (14,18). Ésta ocurre bien por contacto directo o por contaminación de los suministros de agua con material fecal (14,19-21). La criptosporidiosis es una infección oportunista grave en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y es una enfermedad de transmisión sexual potencial (19,22). Las manifestaciones clínicas de la criptosporidiosis incluyen diarrea coleriforme, dolor abdominal, náuseas, vómitos y pérdida de peso. En personas normales, la infección es habitualmente autolimitada y de corta duración. En pacientes con SIDA e inmunodeprimidos, la criptosporidiosis puede causar una enfermedad prolongada y potencialmente mortal por la pérdida excesiva de líquidos. En estos pacientes, la infección puede también propagarse a las vías respiratorias y biliares (19).

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* utiliza anticuerpos monoclonales y policlonales frente a antígenos de la superficie celular de los organismos. El dispositivo contiene una *ventana de reacción* con tres líneas verticales con anticuerpos inmovilizados. La línea de prueba de *Giardia* ("Giar") contiene anticuerpos monoclonales

de ratón frente a *Giardia*. La línea de prueba de *Crypto* (“Cryp”) contiene anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Cryptosporidium*. La línea de control (“C”) es una línea de puntos que contiene anticuerpos anti-peroxidasa de rábano picante (HRP). El *conjugado* contiene anticuerpos policlonales unidos a peroxidasa de rábano picante. Para realizar la prueba, la muestra se añade a un tubo que contiene una mezcla de *diluyente* y *conjugado*. La mezcla muestra-conjugado diluida se añade al *pocillo de muestra* y el dispositivo se incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos. Durante la incubación, los antígenos de quiste y/u ovoquiste de la muestra se unen a los conjugados anticuerpo-peroxidasa. Los complejos antígeno-anticuerpo-conjugado migran a través de un filtro almohadillado a una membrana y los captan los anticuerpos específicos de *Giardia* y/o *Cryptosporidium* inmovilizados en las líneas de la prueba. A continuación, se lava la *ventana de reacción* con el *tampón de lavado* y después se añade el *sustrato*. Tras una incubación de 10 minutos, se comprueba visualmente la reacción y la aparición de una línea azul vertical en cualquiera de los lados de la *ventana de reacción*. La presencia de una línea azul indica un resultado positivo. Una reacción positiva de “control”, indicada por una línea azul de puntos vertical bajo la parte “C” de la *ventana de reacción* confirma que la prueba funciona adecuadamente y que los resultados son válidos.

MATERIALES SUMINISTRADOS

| | |
|-------------------|---|
| MEM DEV | Dispositivos de membrana – cada bolsa contiene 1 dispositivo |
| DIL SPE | Diluyente (20 ml) – Solución tamponada proteínica con cuentagotas graduado* |
| WASH REAG | Tampón de lavado (12 ml) – Solución tamponada con cuentagotas graduado* |
| SUBS REAG | Sustrato (3.5 ml) – Solución con tetrametilbenzidina |
| CONJ ENZ | Conjugado (2.0 ml) – Anticuerpo policlonal frente a un antígeno de superficie celular de <i>Giardia</i> acoplado a peroxidasa de rábano picante y un anticuerpo policlonal a un antígeno de superficie celular de <i>Cryptosporidium</i> acoplado a peroxidasa de rábano picante en una solución tamponada proteínica* |
| CONTROL + | Control positivo (2.5 ml) – Antígenos de <i>Giardia</i> y <i>Cryptosporidium</i> inactivados en una solución tamponada proteínica* |

Pipetas de plástico desechables – graduadas a 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl y 500 µl

*contiene ProClin® 300 al 0,05%

Palabra de advertencia: Advertencia

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



MATERIALES Y EQUIPAMIENTO NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Tubos de ensayo pequeños (p. ej., tubos de plástico Eppendorf)

Varillas aplicadoras

Cronómetro

Mezclador de tipo vórtex

Guantes desechables para manipular las muestras fecales *Pipeta y puntas de pipeta*

PERÍODO DE VALIDEZ Y CONSERVACIÓN

La fecha de caducidad del kit se indica en la etiqueta. Las fechas de caducidad de los componentes se indican en sus correspondientes etiquetas. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2 y 8 °C.

PRECAUCIONES

1. Rx Only - Solo con receta
2. Para uso diagnóstico *in vitro*. Exclusivamente para uso profesional.
3. Cada componente del kit debe inspeccionarse por cualquier posible signo de fugas. A su recepción se inspeccionará el kit para comprobar que los componentes no están congelados ni calientes al tacto debido a condiciones de envío inadecuadas.
4. El reactivo *sustrato* debe ser incoloro. Si el reactivo del *sustrato* adquiere un color azul oscuro/violeta, deseche y avise al servicio técnico para su sustitución.
5. No deben mezclarse los reactivos de kits diferentes. No utilice los kits después de la fecha de caducidad.

6. Los taponos, las puntas y los cuentagotas están codificados con colores y NO deben mezclarse.
7. ¡ANTES DEL USO deje que todos los componentes alcancen la TEMPERATURA AMBIENTE!
8. No congele los reactivos. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2 y 8 °C.
9. La bolsa que contiene el *dispositivo de membrana* debe estar a temperatura ambiente antes de abrirse. Mantenga secos los *dispositivos de membrana* antes de su uso.
10. Cuando añada los reactivos, sujete los frascos de los reactivos en posición vertical con el fin de asegurar que el tamaño de las gotas sea consistente y corrija el volumen en caso necesario.
11. La contaminación microbiana de los reactivos puede afectar a la precisión del análisis. Evite la contaminación microbiológica de los reactivos utilizando pipetas estériles desechables para extraer partes alícuotas de los frascos de reactivos.
12. Los *dispositivos de membrana* no pueden volver a utilizarse.
13. La prueba se ha optimizado para mejorar la sensibilidad y la especificidad. Las alteraciones del procedimiento especificado y/o de las condiciones de la prueba pueden afectar a su sensibilidad y especificidad. No se desvíe del procedimiento especificado.
14. Preste atención al tiempo total del análisis cuando realice la prueba con más de una muestra fecal. Añada primero el *diluyente* y a continuación añada el *conjugado* a cada tubo de *diluyente*. Después añada la muestra al tubo de *diluyente/conjugado*. Mezcle bien todas las muestras diluidas y, a continuación, transfíralas al *dispositivo de membrana*. El paso de incubación de 15 minutos comienza después de que se haya transferido la última mezcla de muestra-*conjugado* diluida al *dispositivo de membrana*.
15. No concentre las muestras antes de realizar las pruebas.
16. Para obtener unos resultados óptimos, utilice muestras fecales recientes, en un plazo no superior a 72 horas desde su recogida. Las muestras congeladas pueden perder su actividad como consecuencia de los procesos de congelación y descongelación. Si se utilizan muestras congeladas, deje que se descongelen a temperatura ambiente.
17. Se ha demostrado que esta prueba es compatible con muestras conservadas en formol al 10%, formol acetato sódico y medios de transporte como Cary Blair o C&S si se siguen las directrices de "Preparación de Muestras" indicadas en este prospecto. Sin embargo, no se ha demostrado que la prueba sea compatible con otros conservantes y medios de transporte.
18. Las muestras y los *dispositivos de membrana* deben manipularse y eliminarse después del uso como materiales biológicos potencialmente peligrosos. Utilice guantes desechables para realizar la prueba.
19. Las muestras fecales pueden contener agentes potencialmente infecciosos y deben manejarse en un "Nivel de Bioseguridad 2", tal como se recomienda en el Manual de los CDC/NIH, "Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos".
20. Los reactivos *conjugado*, *diluyente*, *control positivo* y *tampón de lavado* contienen ProClin 300® al 0,05 % como conservante. Aunque la concentración es baja, se sabe que ProClin® 300 es nocivo (puede producirse sensibilización cutánea). En caso de irritación/sensibilización o erupción cutánea, consulte a un médico. Quítense las prendas contaminadas y lávelas antes de volver a usarlas. Manipule los reactivos de acuerdo con las normas existentes de seguridad de laboratorio y buenas prácticas de laboratorio. Se dispone de fichas de datos de seguridad de este producto bajo pedido; consulte al servicio técnico.
21. Siga las normas nacionales, regionales y locales para consultar los reglamentos de eliminación de residuos.

RECOGIDA Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS FECALES RECIENTES

Pueden usarse muestras recogidas para exámenes rutinarios de huevos y parásitos con la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™*. Las muestras fecales deben recogerse en recipientes limpios, a prueba de fugas.

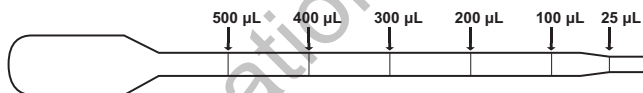
1. Los procedimientos internos estándar de recogida y transporte de las muestras fecales son adecuados.

- Las muestras recientes no tratadas deben conservarse a una temperatura entre 2 y 8 °C. Siempre que sea posible, las muestras recientes se procesarán en las 72 posteriores a su recogida. Almacene las muestras recientes congeladas (≤ -10 °C) durante un período máximo de 90 días si la prueba no puede realizarse en las 72 horas siguientes a la recogida de la muestra, pero tenga en cuenta que los procesos de congelación y descongelación de la muestra pueden provocar la pérdida de actividad por la degradación del antígeno. Evite realizar múltiples ciclos de congelación-descongelación. Si se utilizan muestras congeladas, descongele a temperatura ambiente.
- Las muestras fecales que se han concentrado o tratado con fijadores de PVA no son adecuadas para uso con esta prueba.
- Debe comprobar que las muestras estén completamente mezcladas ANTES de realizar el análisis.
- NO se recomienda conservar las muestras fecales en el *diluyente*.

PREPARACION DE LA MUESTRA

- Espera hasta que todos los reactivos y el número de dispositivos que sean necesarios se encuentren a temperatura ambiente antes de su uso.
- Asigne e identifique un tubo de ensayo pequeño para cada muestra, así como controles externos opcionales según sea necesario.
- Añada 500 μL de *diluyente* (segunda graduación desde la punta) a cada tubo de muestras fecales utilizando el cuentagotas graduado gris. En el caso de muestras en medios de fijación o de transporte como formol al 10%, añada 400 μL de *diluyente* al tubo. Para controles externos, añada 400 μL de *diluyente* a cada tubo.
- Añada una gota de *conjugado* (frasco con tapón rojo) a cada tubo.
- Utilice una pipeta de plástico desechable (suministrada con el kit) para cada muestra – las pipetas tienen graduaciones a 25 μL , 100 μL , 200 μL , 300 μL , 400 μL y 500 μL .

Pipeta graduada:



- Mezcle bien todas las muestras independientemente de su consistencia, ya que es muy importante obtener una suspensión homogénea de las muestras antes de transferirlas.

Muestras líquidas/semisólidas – Pipetee 25 μL de muestra con una pipeta (graduada a 25 μL , 100 μL , 200 μL , 300 μL , 400 μL y 500 μL) y añada esta cantidad a la mezcla de *diluyente/conjugado*. Utilice la misma pipeta para mezclar la muestra diluida.

Muestras formadas/sólidas – Es preciso tener cuidado para añadir el volumen correcto de heces formadas a la mezcla de muestra. Mezcle bien la muestra con un palito aplicador de madera y transfiera una parte pequeña (aproximadamente de 2 mm de diámetro, el equivalente de 25 μL) de la muestra a la mezcla de *diluyente/conjugado*. Emulsione la muestra con el palito aplicador.

Muestras fecales en medios de fijación o transporte – Pipetee 100 μL (2 gotas de la pipeta) de muestra a la mezcla de *diluyente/conjugado*.

- Muestras opcionales de control externo:

Control positivo externo – Añada cuatro gotas de *control positivo* (frasco con tapón gris) al tubo de ensayo adecuado con *diluyente*.

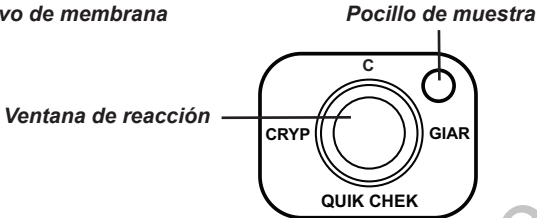
Control negativo externo – Añada 100 μL de *diluyente* al tubo de ensayo adecuado con *diluyente*.

NOTA: Si se transfiere una cantidad muy reducida de muestra o si no se mezcla y se suspende completamente la muestra en la mezcla de *diluyente* puede obtenerse un resultado falso negativo en la prueba. Si se añade una cantidad excesiva de heces, pueden obtenerse resultados no válidos debido al reducido flujo de la muestra.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

1. Obtenga un *dispositivo de membrana* por muestra y un *dispositivo de membrana* para el control positivo o negativo externo opcional, según sea necesario. Las bolsas de papel de aluminio que contienen los dispositivos deben estar a temperatura ambiente antes de proceder a su apertura. Utilice el dispositivo inmediatamente después de abrir. Identifique los dispositivos de forma apropiada y oriéntelos en una superficie plana de forma que la inscripción “QUIK CHEK” del dispositivo se encuentre en el fondo del mismo y el *pocillo de muestra* pequeño se encuentre en la esquina superior derecha del dispositivo.

Dispositivo de membrana



2. Cierre cada tubo de muestra diluida y mézclelo bien. Mezcle adecuadamente con vórtex o invirtiendo el tubo. Una vez diluida la muestra de paciente o *control positivo* en la mezcla *diluyente/conjugado*, esta puede incubarse a 2 - 8 °C durante un período de hasta 24 horas antes de añadirla al *dispositivo de membrana*.
3. Utilice una nueva pipeta, transfiera 500 µl de la mezcla de muestra-conjugado diluida al ***pocillo de muestra*** (orificio más pequeño en la esquina superior derecha del dispositivo) de un *dispositivo de membrana* y asegúrese de que expulsa la muestra líquida en la almohadilla de absorción del interior del *dispositivo de membrana*. Cuando cargue la muestra en el pocillo, compruebe que la punta de la pipeta está angulada hacia la *ventana de reacción* (orificio mayor en el centro del dispositivo).
4. Incube el dispositivo a temperatura ambiente durante 15 minutos – la muestra se absorberá a través del dispositivo y el área húmeda se extenderá en la *ventana de reacción*.

NOTA PARA LAS MUESTRAS QUE NO MIGRAN:

A veces la muestra fecal diluida obstruye las membranas y la ventana de reacción no se humedece adecuadamente. Esto habitualmente se debe a la adición de demasiada muestra fecal al diluyente de muestra. Si la muestra fecal diluida no migra adecuadamente 5 minutos después de haber añadido la muestra al pocillo de muestra (es decir, la membrana de la ventana de reacción no parece estar completamente húmeda), añada 100 µl (4 gotas) de diluyente al pocillo de muestra y espere otros 5 minutos (hasta un total de 20 minutos). Si la muestra sigue sin migrar, repita la prueba en la muestra.

5. Después de la incubación, añada 300 µl de *solución tampón de lavado* a la ***ventana de reacción*** utilizando el cuentagotas blanco graduado (o equivalente). Deje que la *solución de lavado* penetre en la membrana de la *ventana de reacción* y se absorba completamente.
6. Añada 2 gotas de *sustrato* (frasco con tapón blanco) a la ***ventana de reacción***. Lea y anote los resultados observados después de 10 minutos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. La interpretación de la prueba es más fiable cuando se lee el dispositivo inmediatamente después del período de reacción. Lea el dispositivo a una distancia normal en una zona bien iluminada. Dirija la mirada a la línea de visión situada directamente sobre el dispositivo. Un resultado positivo puede interpretarse en cualquier momento entre la adición del *sustrato* y el tiempo de lectura de 10 minutos. Sin embargo, una prueba no puede interpretarse como negativa o no válida hasta 10 minutos después de haber terminado la adición del *sustrato*.

2. Observe la aparición de puntos azules en el centro de la *ventana de reacción* que representa el control positivo interno. Observe la aparición de líneas azules en cada uno de los lados de los puntos de control (*Giardia* a la derecha, *Cryptosporidium* a la izquierda). El color de las líneas puede ser débil o intenso.
3. **Resultado positivo de *Giardia* (Fig. 1b, Fig. 1c):** Se pueden ver los puntos de control y la línea de *Giardia* (al lado derecho de la *ventana de reacción*). Las líneas pueden tener una intensidad débil a oscura – cualquier línea azul en el lado derecho de los puntos de control se considera positiva. No interprete la decoloración de la membrana como un resultado positivo. Un resultado positivo indica la presencia del antígeno de *Giardia* y una línea de control positivo debidamente reactiva.
4. **Resultado positivo de *Cryptosporidium* (Fig. 1b, Fig. 1d):** Se pueden ver los puntos de control y la línea de *Cryptosporidium* (al lado izquierdo de la *ventana de reacción*). Las líneas pueden tener una intensidad débil a oscura – cualquier línea azul en el lado izquierdo de los puntos de control se considera positiva. No interprete la decoloración de la membrana como un resultado positivo. Un resultado positivo indica la presencia de antígeno de *Cryptosporidium* y una línea de control positiva debidamente reactiva.
5. **Resultado negativo (Fig. 1a):** Sólo son visibles los puntos de control en el centro de la *ventana de reacción*. No se ven líneas. Un resultado negativo indica que los antígenos de *Giardia* y *Cryptosporidium* no están presentes en la muestra o están por debajo de los límites detectables de esta prueba.
6. **Resultado no válido (Fig. 1e-1h):** La prueba no es válida si no hay puntos control presentes a la terminación del período de reacción (Figuras 1e-1h).

FIGURA 1: INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™*

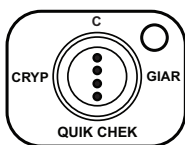


Figura 1a
Resultado negativo

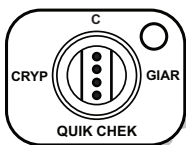


Figura 1b
Resultado positivo para
Giardia y *Cryptosporidium*

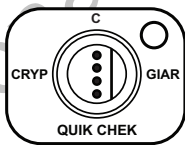


Figura 1c
Resultado positivo
para *Giardia*

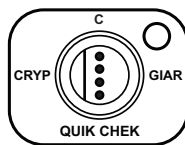


Figura 1d
Resultado positivo
para *Cryptosporidium*

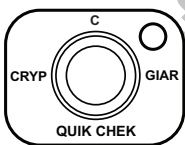


Figura 1e
Resultado no válido

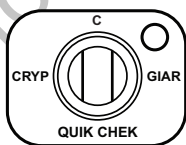


Figura 1f
Resultado no válido

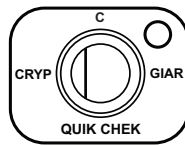


Figura 1g
Resultado no válido

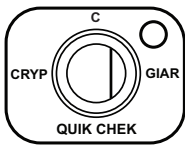


Figura 1h
Resultado no válido

CONTROL DE CALIDAD

Interno: Debe observarse una línea azul de puntos en el centro de la *ventana de reacción*, debajo de "C", en cada *dispositivo de membrana* analizado. La aparición de los puntos azules de control confirma que se han añadido correctamente la muestra y los reactivos, que los reactivos estaban activos durante la realización del análisis y que la mezcla ha migrado adecuadamente a través del *dispositivo de membrana*. Un fondo transparente en el área de resultados se considera como un control negativo interno. Si la prueba se ha realizado adecuadamente y los reactivos funcionan correctamente, el fondo será blanco para dar un resultado apreciable.

Externo: La reactividad del kit *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* debe comprobarse a su recepción mediante el *control positivo* y el control negativo (*diluyente*). El *control positivo* se suministra con el kit (frasco con tapón gris). El *control positivo* confirma la reactividad de los otros reactivos asociados al ensayo. El *diluyente* se utiliza para el control negativo. Pueden realizarse pruebas adicionales con los controles para cumplir los requisitos administrativos locales, regionales o federales y los de los organismos de acreditación.

LIMITACIONES

1. La prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* se utiliza para detectar *Giardia* y/o *Cryptosporidium* en muestras fecales. La prueba confirma la presencia de antígeno en heces y esta información deberá analizarla el médico junto con la anamnesis y la exploración física del paciente.
2. Las muestras fecales son muy complejas. Los resultados óptimos de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* se obtienen con muestras recogidas en las 72 horas previas. La mayoría de las muestras recientes no diluidas puede conservarse entre 2 y 8 °C durante 72 horas antes de que se produzca una degradación del antígeno. Si las muestras no se pueden analizar en este plazo de tiempo, se pueden congelar durante un período máximo de 90 días y posteriormente descongelar. Sin embargo, si las muestras se congelan y descongelan repetidamente, puede perderse la inmunorreactividad del antígeno.
3. En algunas muestras pueden obtenerse reacciones débilmente positivas. Esto puede deberse a diversos factores como la presencia de niveles bajos de antígeno, la presencia de sustancias fijadoras o enzimas inactivadoras en las heces. *En estas condiciones, la prueba debe realizarse con una muestra fresca.*
4. La prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* es cualitativa. La intensidad del color no debe interpretarse cuantitativamente.
5. No se ha evaluado el uso de muestras fecales concentradas.

VALORES ESPERADOS

Los sujetos sanos normales no deben estar infectados por *Giardia* o *Cryptosporidium* y deberían dar resultados negativos en la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™*. Un resultado positivo de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* indica que la persona está diseminando cantidades detectables del antígeno de *Giardia* o de *Cryptosporidium*. La incidencia de infección por *Giardia* o *Cryptosporidium* varía significativamente entre diferentes poblaciones y regiones geográficas. Los niños que van a guarderías tienen mayores tasas de infección por *Giardia* que la población normal (21). Asimismo, los varones homosexuales presentan tasas de infección más elevadas (22). En general, la incidencia de criptosporidiasis confirmada por laboratorio en países desarrollados oscila entre el 1% y el 2%, y se da una incidencia mayor en niños (23).

Se realizaron estudios prospectivos para valorar la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* en un hospital asiático especializado en enfermedades diarreicas. En los estudios se utilizaron 129 muestras fecales recién recogidas. Se obtuvo un resultado positivo en la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* en el 22,5% para el antígeno de *Giardia* y en el 5,4% para el antígeno de *Cryptosporidium*.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se evaluó el rendimiento de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* en 3 lugares geográficamente diferentes. En los centros n.º 1 y n.º 2 se comparó el rendimiento de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* con microscopía (IFA) incluyendo 220 muestras recientes, 140 congeladas, 216 conservadas en formol y 215 conservadas en SAF. En los centros n.º 1 y n.º 2 se comparó el rendimiento de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* con dos ELISA comerciales (dispositivos establecidos para *Giardia* y *Cryptosporidium*) incluyendo 349 muestras recientes, 322 congeladas, 36 conservadas en formol y 142 conservadas en SAF.

Rendimiento en comparación con microscopia (IFA) – Resultados combinados para los centros n.º 1 y n.º 3 del estudio.

Para las especies *Giardia*

La tabla siguiente muestra un resumen del rendimiento clínico de la parte de *Giardia* de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™*. Los resultados demuestran que la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* mostró una sensibilidad del 98,9%, una especificidad del 100% y una correlación global del 99,7% con la microscopia – IFA (considerado el patrón de referencia).

Resultados combinados - Rendimiento clínico comparando la línea *Giardia* de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* con microscopia – IFA

| N = 791 | Microscopia - positiva para <i>Giardia</i> en IFA | Microscopia - negativa para <i>Giardia</i> en IFA |
|--|---|---|
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> - Línea de <i>Giardia</i> positiva | 181 | 0 |
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> - Línea de <i>Giardia</i> negativa | 2 | 608 |

| | | Límites de confianza del 95% |
|---------------|-------|------------------------------|
| Sensibilidad | 98,9% | 95,7 – 99,8% |
| Especificidad | 100% | 99,2 – 100% |
| Correlación | 99,7% | 99,7 – 99,7% |

Para las especies *Cryptosporidium*

La tabla siguiente muestra un resumen del rendimiento clínico de la porción de *Cryptosporidium* de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™*. Los resultados demuestran que la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* mostró una sensibilidad del 100%, una especificidad del 99,8% y una correlación global del 99,9% con microscopia – IFA (considerado el patrón de referencia).

Resultados combinados - Rendimiento clínico comparando la línea *Cryptosporidium* de la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* con microscopia – IFA

| N = 791 | Microscopia - positiva para <i>Crypto.</i> en IFA | Microscopia - negativa para <i>Crypto.</i> en IFA |
|--|---|---|
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> - Línea de <i>Cryptosporidium</i> positiva | 140 | 1 |
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> - Línea <i>Cryptosporidium</i> negativa | 0 | 650 |

| | | Límites de confianza del 95% |
|---------------|-------|------------------------------|
| Sensibilidad | 100% | 96,7 – 100% |
| Especificidad | 99,8% | 99,0 – 100% |
| Correlación | 99,9% | 100 – 100% |

Rendimiento comparado con dos dispositivos establecidos (dispositivos comercialmente disponibles para *Giardia* y *Cryptosporidium*) - Resultados combinados para los centros n.º 1 y n.º 2 del estudio:

Los resultados combinados de nuestras evaluaciones de rendimiento en los centros n.º 1 y n.º 2 del estudio en comparación con dos pruebas ELISA disponibles comercialmente (dispositivos establecidos para *Giardia* y *Cryptosporidium*) mostraron una concordancia del 99,1% en las muestras positivas para *Giardia*, una concordancia del 99,7% para muestras negativas para *Giardia* con una concordancia global del 99,5%. La muestra mostró una concordancia del 99,2% en las muestras positivas para *Cryptosporidium*, concordancia del 99,6% en muestras negativas para *Cryptosporidium* y un acuerdo global del 99,5%.

Línea de *Giardia* de la prueba GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ frente a la prueba ELISA comercial para la detección de *Giardia*

| N = 849 | ELISA comercial - positiva para <i>Giardia</i> | ELISA comercial - negativa para <i>Giardia</i> |
|---|---|---|
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ - Línea de <i>Giardia</i> positiva | 213 | 2 |
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ - Línea de <i>Giardia</i> negativa | 2 | 632 |

| | | Límites de confianza del 95% |
|-----------------------|-------|---------------------------------|
| Concordancia positiva | 99,1% | 96,3 – 99,8% |
| Concordancia negativa | 99,7% | 98,7 – 99,9% |
| Concordancia global | 99,5% | 99,5 – 99,5% |

Línea de *Cryptosporidium* de la prueba GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ frente a la ELISA comercial para la detección de *Cryptosporidium*

| N = 849 | ELISA comercial - positiva para <i>Cryptosporidium</i> | ELISA comercial - negativa para <i>Cryptosporidium</i> |
|---|--|--|
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ - Línea de <i>Cryptosporidium</i> positiva | 130 | 3 |
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ - Línea <i>Cryptosporidium</i> negativa | 1 | 715 |

| | | Límites de confianza del 95% |
|-----------------------|-------|---------------------------------|
| Concordancia positiva | 99,2% | 95,2 – 100% |
| Concordancia negativa | 99,6% | 98,7 – 99,9% |
| Concordancia global | 99,5% | 99,5 – 99,5% |

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

La sensibilidad analítica del dispositivo se determinó marcando quistes de *Giardia* u ovoquistes de *Cryptosporidium* purificados cuantificados mediante microscopía de inmunofluorescencia (IFA) en muestras fecales humanas negativas. Para determinar el límite de detección (LdD) de la prueba se utilizaron las concentraciones de quistes de *Giardia* y de ovoquistes de *Cryptosporidium* en matrices fecales donde las muestras habían dado positivas con la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* el 95% de las veces. Los resultados de las pruebas mostraron que el LdD del ensayo era 6000 quistes/ml de heces en el caso de *Giardia* (equivalente a 133 quistes detectados por prueba) y 6000 ovoquistes/ml de heces en el caso de *Cryptosporidium* (equivalente a 133 ovoquistes detectados por prueba). Dado que la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* detecta el antígeno soluble en muestras fecales además de en quistes y ovoquistes, este estudio del LdD representa una estimación de la sensibilidad analítica basada en quistes de *Giardia* y ovoquistes de *Cryptosporidium* purificados. Las muestras clínicas contienen diferentes cantidades de antígeno libre por quiste de *Giardia* o por ovoquiste de *Cryptosporidium*.

REPRODUCIBILIDAD

Un total de 22 muestras fecales se caracterizaron previamente mediante dispositivos establecidos, disponibles comercialmente. Las muestras incluyeron 6 muestras positivas para *Giardia* (3 positivas de rango medio), 6 muestras positivas para *Cryptosporidium* (3 positivas bajas) y 4 muestras positivas para *Giardia/Cryptosporidium* (2 de las cuales fueron positivas bajas para *Giardia* y 2 de las cuales eran positivas bajas para *Cryptosporidium*) y 6 muestras fueron negativas para ambos parásitos. Todas las muestras se codificaron para prevenir su identificación durante la realización de las pruebas. Las pruebas se realizaron en 3 centros. Se estudiaron las muestras dos veces al día durante un período de 5 días mediante múltiples técnicos en cada centro usando 2 lotes de kits diferentes. Se estudió un control positivo y negativo con cada panel de las muestras enmascaradas. Los resultados de cada laboratorio se remitieron posteriormente a TECHLAB, Inc. y se compararon con resultados internos. Los resultados fueron coherentes entre las diferentes localizaciones y mostraron una correlación del 100%. Las muestras positivas dieron de forma constante resultados positivos y las muestras negativas dieron resultados negativos de forma constante en todos los centros usando la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™*.

REACTIVIDAD CRUZADA

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

| | |
|---|---|
| <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 bifermentans</i> | <i>Clostridium difficile</i> (strain 630) |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| <i>Escherichia coli</i> 0157:H7 | <i>Escherichia coli</i> ETEC (enterotoxig) |
| <i>Escherichia coli</i> EPEC (enteropathogenic) | <i>Escherichia coli</i> EIEC (enteroinvasiva) |
| <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> (Cowan's) | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | <i>Yersinia enterocolitica</i> |

| | |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Human Adenovirus 1 and 3 | Adenovirus, Type 2, 5, 40 and 41 |
| Human Coxsackievirus B2, B3, and B4 | Coxsackievirus B5 |
| Human Coronavirus | Echovirus 11, 18, 33 |
| Human Echovirus 9 | Human paraechovirus 1 (Echovirus 22) |
| Enterovirus 68, 69 | Human Enterovirus 70, 71 |
| Human rotavirus | |

Además, se realizó la prueba *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* en muestras fecales documentadas como positivas para otros parásitos al microscopio. No se observó reactividad cruzada con los siguientes organismos para la porción de *Giardia* o la porción de *Cryptosporidium* de la prueba. No se ha establecido reactividad cruzada con astrovirus y calicivirus.

Ascaris lumbricoides eggs
Chilomastix mesnili
Dientamoeba fragilis
Endolimax nana
Entamoeba hartmanni
Hookworm eggs
Trichuris trichiura eggs

Blastocystis hominis
Cyclospora cayetanensis
Diphyllobothrium latum eggs
Entamoeba coli
Entamoeba histolytica/E. dispar
Iodamoeba bütschlii

SUSTANCIAS INTERFERENTES (formulaciones de EE.UU.)

Las siguientes sustancias no tuvieron ningún efecto en los resultados positivos o negativos de la prueba analizadas a las concentraciones indicadas: mucina gástrica de cerdo (3.5% p/v), sangre humana (40% v/v), sulfato de bario (5% p/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), ácido estérico/ácido palmítico (40% p/v), metronidazol (0.25% p/v) y vancomicina (0.25% p/v).

COMPATIBILIDAD CON LOS CONSERVANTES DE MUESTRAS

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

PRECISIÓN – INTRAANALÍTICA

Para la determinación del rendimiento intraanalítico, se analizaron 6 muestras fecales positivas (dos positivas para *Giardia*, dos positivas para *Cryptosporidium*, dos positivas tanto para *Giardia* como para *Cryptosporidium*) y seis muestras fecales negativas. Se ensayó cada muestra en 5 cassettes. Todos los resultados positivos siguieron siendo positivos y todos los resultados negativos, negativos.

PRECISIÓN – INTERANALÍTICA

Para la determinación del rendimiento interanalítico se ensayaron dos veces al día durante un período de cuatro días 16 muestras fecales positivas (seis positivas para *Giardia*, seis positivas para *Cryptosporidium* y cuatro positivas tanto para *Giardia* como para *Cryptosporidium*) y se valoraron seis muestras fecales negativas dos veces al día durante un período de cuatro días usando el kit *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™*. Todos los resultados positivos siguieron siendo positivos y todos los resultados negativos, negativos.

VERWENDUNGSZWECK

Der *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test ist ein Membranenzymimmunoassay-Schnelltest für den gleichzeitigen qualitativen Nachweis und die Differenzierung von *Giardia*-Zysten-Antigenen und *Cryptosporidium*-Oozysten-Antigenen auf einer einzigen Testkarte. Er dient als Hilfsmittel zur Diagnose von *Giardia*- und/oder *Cryptosporidium*-bedingten Magen-Darm-Infektionen in menschlichen Stuhlproben von Patienten mit Symptomen einer Magen-Darm-Erkrankung. Die Testergebnisse sind gemeinsam mit der Patientenanamnese zu betrachten.

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

ERKLÄRUNG

Giardia spp. ist ein zweikerniger begeißelter protozoischer Parasit, der in zwei Formen vorkommt: als nicht-infektiöser birnenförmiger Trophozoit (9 bis 20 µm), der im Dünndarm lebt, sowie als hochinfektiöse Zyste, die eine elliptische Form und eine Größe zwischen 8 und 12 µm aufweist (1). Die beiden Formen unterscheiden sich stark in ihrer Überlebensfähigkeit außerhalb des Wirtes: Der Trophozoit ist äußerst labil und überlebt nur wenige Stunden außerhalb des Körpers, während die Zyste mehrere Tage in einer externen Umgebung überleben kann (1). Es wurde die Einschleppung von Giardiasis aus endemischen Gebieten, v. a. über verseuchtes Wasser, durch Reisende beobachtet (2-5). Die Übertragung geschieht auch durch direkten Kontakt, besonders mit asymptomatischen Trägern, und durch kontaminierte Nahrungsmittel (6). Hochrisikogruppen sind Kleinkinder, immungeschwächte Patienten sowie Personen ohne vorherigen Kontakt mit dem Erreger (8). In jüngerer Zeit wird Giardiasis häufig auch sexuell übertragen (9). Die Kontamination mit tierischen Fäkalien, insbesondere von Wasser, stellt einen weiteren Übertragungsweg beim Menschen dar (4,10,11). Die klinischen Manifestationen der Giardiasis reichen von der asymptomatischen Trägerschaft mit der Weitergabe von Zysten bis zur chronischen, schwächenden Diarrhoe, Gewichtsverlust und Malabsorption (8,12,13).

Cryptosporidium spp. ist ein protozoischer Parasit von Vertebraten, von dem man früher annahm, dass er nur bei Tieren Diarrhoe auslöst (14). Im Jahre 1976 wurde die erste menschliche Infektion gemeldet (15). Seitdem hat man festgestellt, dass der Erreger weltweit mit Durchfallerkrankungen assoziiert wird und eine häufige Ursache der Reisediarrhoe darstellt (14,16). Die Erkrankung wird durch die dickwandige Oozystenform übertragen, die einen Durchmesser von 2-6 µm aufweist und erstaunlich resistent gegen herkömmliche Desinfektionsmittel und routinemäßige Chlorierung des Trinkwassers ist. Die Übertragung von Mensch zu Mensch, besonders bei Kindern, ist weit verbreitet (17). *Cryptosporidium* weist eine geringe bzw. gar keine Wirtsspezifität auf, und Tiere wie Nager, Rinder und Haustiere fungieren als Träger für die zoonotische Übertragung auf den Menschen (14,18). Diese geschieht entweder durch direkten Kontakt oder durch Kontaminierung des Wassers mit Fäkalien (14,19-21). Kryptosporidiose ist eine schwere, opportunistische Infektion bei Patienten mit erworbenem Immunschwächesyndrom (AIDS) und wird potenziell sexuell übertragen (19,22). Klinische Manifestationen der Kryptosporidiose sind choleraartige Diarrhoe, Bauchschmerzen, Übelkeit, Erbrechen und Gewichtsverlust. Bei Gesunden ist die Infektion in der Regel von kurzer Dauer und selbstlimitierend. Bei AIDS-Patienten und immungeschwächten Personen kann Kryptosporidiose zu einer lang andauernden und aufgrund exzessiven Flüssigkeitsverlusts lebensbedrohlichen Erkrankung werden. Bei diesen Patienten kann sich die Infektion auch auf die Atem- und Gallenwege ausbreiten (19).

TESTPRINZIP

Der *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test basiert auf monoklonalen und polyklonalen Antikörpern gegen Zelloberflächenantigene der Organismen. Die Testkarte verfügt über ein *Reaktionsfenster* mit drei vertikalen Linien immobilisierter Antikörper. Die *Giardia*-Testlinie („Giar“) enthält monoklonale Antikörper gegen *Giardia*

aus der Maus. Die Crypto-Testlinie („Cryp“) enthält monoklonale Antikörper gegen *Cryptosporidium* aus der Maus. Die Kontrolllinie („C“) ist eine gepunktete Linie, die Anti-Meerrettich-Peroxidase (MRP)-Antikörper enthält. Das *Konjugat* besteht aus an Meerrettich-Peroxidase gebundenen polyklonalen Antikörpern. Zur Durchführung des Tests wird die Probe einem Reagenzglas mit einer Mischung aus *Verdünnungspuffer* und *Konjugat* hinzugefügt. Die verdünnte Proben-Konjugat-Mischung wird in die *Probenvertiefung* gegeben und die Testkarte bei Raumtemperatur 15 Minuten inkubiert. Während der Inkubation binden die in der Probe vorhandenen Zysten- und/oder Oozysten-Antigene an die Antikörper-Peroxidase-Konjugate. Die Antigen-Antikörper-Konjugat-Komplexe wandern durch ein Filterpad zu einer Membran, wo sie von den immobilisierten *Giardia*- und/oder *Cryptosporidium*-spezifischen Antikörpern der Testlinien eingefangen werden. Anschließend wird das *Reaktionsfenster* mit *Waschpuffer* gewaschen und *Substrat* zugegeben. Nach einer Inkubation von 10 Minuten wird die Reaktion mittels Sichtkontrolle auf das Erscheinen einer vertikalen blauen Linie auf einer der beiden Seiten des *Reaktionsfensters* untersucht. Eine blaue Linie weist auf einen positiven Test hin. Eine positive „Kontroll“-Reaktion, angezeigt durch eine vertikale gepunktete blaue Linie unter dem „C“-Bereich des *Reaktionsfensters*, bestätigt, dass der Test ordnungsgemäß funktioniert und die Ergebnisse gültig sind.

PACKUNGSINHALT

MEM | DEV *Testkarten* – jeder Beutel enthält 1 Testkarte

DIL | SPE *Verdünnungspuffer* (20 ml) – Gepufferte Proteinlösung mit geeichtem Tropfer*

WASH|REAG *Waschpuffer* (12 ml) – Gepufferte Lösung mit geeichtem Tropfer*

SUBS|REAG *Substrat* (3,5 ml) – Lösung mit Tetramethylbenzidin

CONJ | ENZ *Konjugat* (2,0 ml) – Polyklonaler Antikörper gegen ein *Giardia*-Zelloberflächenantigen, gebunden an Meerrettich-Peroxidase, und ein polyklonaler Antikörper gegen ein *Cryptosporidium*-Zelloberflächenantigen, gebunden an Meerrettich-Peroxidase in einer gepufferten Proteinlösung*

CONTROL|+ *Positive Kontrolle* (2,5 ml) – Inaktivierte *Giardia*- und *Cryptosporidium*-Antigene in einer gepufferten Proteinlösung*

Einweg-Kunststoffpipetten - auf 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl und 500 µl geeicht

*enthält 0,05 % ProClin® 300

Signalwort: Warnung

H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



BENÖTIGTES, NICHT ENTHALTENES MATERIAL

Kleine Reagenzgläser (z.B. Eppendorf-Reagenzgläser aus Kunststoff)

Applikatorstäbchen

Zeitmesser

Vortex-Schüttler

Einweghandschuhe zur Handhabung der Stuhlproben

Pipettierer und

Pipettenspitzen

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum des Testkits ist auf dem Verpackungsetikett angegeben. Das Verfallsdatum für die einzelnen Bestandteile ist auf den jeweiligen Etiketten angegeben. Das Kit muss bei einer Temperatur zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden.

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Rx Only - Verschreibungspflichtig
2. *In-vitro*-Diagnostikum. Nur für den professionellen Gebrauch.
3. Alle Bestandteile des Kits müssen auf Anzeichen von Undichtigkeit untersucht werden. Bei Erhalt des Kits ist sicherzustellen, dass die Komponenten nicht aufgrund unsachgemäßer Transportbedingungen gefroren oder zu warm sind.

4. Das *Substratreagens* muss farblos sein. Sollte das *Substratreagens* eine dunkelblaue/ violette Färbung annehmen, so wenden Sie sich bitte an den Kundendienst für einen Ersatz.
5. Reagenzien aus verschiedenen Kits nicht mischen. Verwenden Sie das Testkit nicht nach dem Verfallsdatum.
6. Verschlüsse, Spitzen und Tropfer sind farbkodiert; NICHT vertauschen!
7. Lassen Sie alle Bestandteile VOR DER VERWENDUNG RAUMTEMPERATUR annehmen!
8. Reagenzien nicht einfrieren. Das Kit muss bei einer Temperatur zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden.
9. Der Beutel mit *der Testkarte* muss vor dem Öffnen Raumtemperatur angenommen haben und darf erst unmittelbar vor dem Gebrauch geöffnet werden. Testkarten vor Gebrauch trocken lagern.
10. Halten Sie die Reagenzflaschen bei der Reagenzienaussgabe senkrecht, um eine einheitliche Tropfengröße und korrekte Menge sicherzustellen.
11. Eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien kann die Genauigkeit des Tests beeinträchtigen. Vermeiden Sie mikrobielle Kontaminationen der Reagenzien durch Verwendung steriler Einweg-Pipetten für die Reagenzienentnahme aus den Flaschen.
12. Die Testkarten dürfen nicht wiederverwendet werden.
13. Der Test wurde in Bezug auf Sensitivität und Spezifität optimiert. Abweichungen vom angegebenen Verfahren und/oder Änderungen der Testbedingungen können die Sensitivität und Spezifität des Tests beeinflussen. Halten Sie sich genau an die Anweisungen.
14. Achten Sie beim Testen mehrerer Stuhlproben auf die Gesamttestzeit. Geben Sie zuerst den *Verdünnungspuffer* und dann das *Konjugat* in jedes Reagenzglas mit *Verdünnungspuffer* hinzu. Geben Sie hierauf die Probe in das Reagenzglas mit dem *Verdünnungspuffer/Konjugat*. Mischen Sie die verdünnten Proben gründlich durch, und übertragen Sie diese dann auf die *Testkarte*. Der 15-minütige Inkubationsschritt beginnt nach Übertragung der letzten verdünnten Proben-Konjugat-Mischung auf die *Testkarte*.
15. Proben vor dem Testen nicht konzentrieren.
16. Verwenden Sie frische Stuhlproben nach der Entnahme innerhalb von 72 Stunden, um optimale Ergebnisse zu erzielen. Gefrorene Proben können aufgrund des Einfrier- und Auftauvorgangs Aktivitätsverluste aufweisen. Gefrorene Proben bei Raumtemperatur auftauen.
17. Dieser Test hat sich bei Befolgung der unter „Probenvorbereitung“ aufgeführten Anweisungen dieser Packungsbeilage als kompatibel mit Proben erwiesen, die in 10% Formalin, Natriumacetat-Formalin und Transportmedien wie Cary Blair oder C&S konserviert wurden. Die Kompatibilität des Tests mit anderen Konservierungsstoffen und Transportmedien wurde nicht nachgewiesen.
18. Proben und Testkarten nach dem Gebrauch als potenzielle biologische Gefahrstoffe behandeln und entsorgen. Tragen Sie während der Durchführung des Tests Einweghandschuhe.
19. Stuhlproben können potenzielle Infektionserreger enthalten und sind wie im CDC/NIH-Handbuch „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ (Biosicherheit in mikrobiologischen und biomedizinischen Labors) empfohlen nach „Biosicherheitsstufe 2“ zu handhaben.
20. Das *Konjugat*, der *Verdünnungspuffer*, die *Positive Kontrolle* und der *Waschpuffer* enthalten 0.05% ProClin® 300 als Konservierungsstoff. Auch wenn die Konzentration gering ist, ist ProClin® 300 als schädlich bekannt (Hautsensibilisierung kann auftreten). Bei Hautsensibilisierung/-reizung ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Reagenzien gemäß vorhandenen Vorschriften für die Laborsicherheit und gute Laborpraxis behandeln. Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage erhältlich. Wenden Sie sich an den Kundendienst.
21. Befolgen Sie Ihre nationalen, regionalen und lokalen Verordnungen in Bezug auf die Abfallentsorgung.

ENTNAHME UND HANDHABUNG FRISCHER STUHLPROBEN

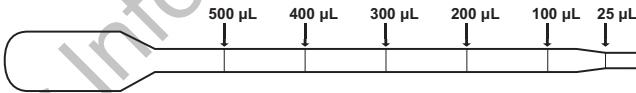
Für den *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test eignen sich Proben, die für Routineuntersuchungen aus Eizellen und Parasiten entnommen wurden. Für die Entnahme der Stuhlproben sind saubere, dichte Behälter zu verwenden.

1. Die üblichen Methoden zur Entnahme und Handhabung von Stuhlproben sind geeignet.
2. Frische unbehandelte Proben müssen bei Temperaturen zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden. Nach Möglichkeit sollten frische Stuhlproben beim Test weniger als 72 Stunden alt sein. Frieren Sie die frischen Proben ein ($\leq -10^{\circ}\text{C}$, bis zu 90 Tage), wenn der Test nicht innerhalb von 72 Stunden nach der Entnahme durchgeführt werden kann. Beachten Sie jedoch, dass ein Einfrieren und Auftauen der Proben aufgrund des Zerfalls des Antigens zu Aktivitätsverlusten führen kann. Vermeiden Sie mehrmaliges Einfrieren und Auftauen. Gefrorene Proben bei Raumtemperatur auftauen.
3. Konzentrierte Stuhlproben bzw. Stuhlproben, die mit PVA-Fixiermitteln behandelt wurden, sind für diesen Test nicht geeignet.
4. Stellen Sie sicher, dass die Proben VOR dem Test gründlich gemischt werden.
5. Stuhlproben sollten NICHT im *Verdünnungspuffer* gelagert werden.

PROBENVORBEREITUNG

1. Lassen Sie alle Reagenzien und die erforderliche Anzahl von Testkarten vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen.
2. Verwenden Sie für jede Stuhlprobe und jede zusätzliche externe Kontrolle ein eigenes kleines Reagenzglas und kennzeichnen Sie es.
3. Geben Sie mithilfe des geeichten grauen Tropfers 500 μL (2. Markierung von der Spitze weg) *Verdünnungspuffer* in jedes Stuhlproben-Reagenzglas. Bei Proben in Fixiermitteln oder Transportmedien wie etwa 10% Formalin geben Sie 400 μL *Verdünnungspuffer* in das Reagenzglas. Für die externen Kontrollen geben Sie 400 μL *Verdünnungspuffer* in jedes Reagenzglas.
4. Fügen Sie jedem Reagenzglas einen Tropfen *Konjugat* (Flasche mit rotem Verschluss) bei.
5. Nehmen Sie eine Einweg-Kunststoffpipette (im Lieferumfang enthalten) für jede Probe – die Pipetten sind auf 25 μL , 100 μL , 200 μL , 300 μL , 400 μL und 500 μL geeicht.

Geeichte Transferpipette:



6. Mischen Sie alle Proben unabhängig von ihrer Konsistenz gründlich durch – eine gleichmäßige Suspension der Proben vor dem Übertragen ist unbedingt erforderlich.
Flüssige/Halbfeste Proben – Pipettieren Sie 25 μL Probe mit einer Transferpipette (auf 25 μL , 100 μL , 200 μL , 300 μL , 400 μL und 500 μL geeicht), und dispensieren Sie diese in die *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung. Verwenden Sie dieselbe Transferpipette zum Mischen der verdünnten Probe.

Feste Stuhlproben – Achten Sie genau darauf, dass Sie der Probenmischung die korrekte Stuhlmenge beifügen. Mischen Sie die Probe gründlich mithilfe eines Applikatorstäbchens durch, und übertragen Sie eine kleine Probenmenge (ca. 2 mm Durchmesser, entspricht der Menge von 25 μL) in die *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung. Emulgieren Sie die Probe mit dem Applikatorstäbchen.

Proben in Fixiermitteln bzw. Transportmedien – Pipettieren Sie 100 μL Probe (2 Tropfen aus der Transferpipette) in die *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung.

7. Externe Kontrollproben (optional):

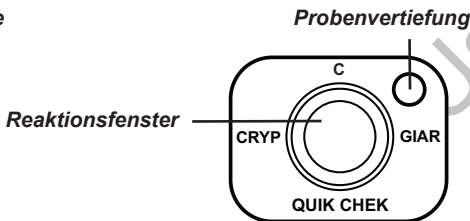
Externe positive Kontrolle – Geben Sie vier Tropfen *positive Kontrolle* (Flasche mit grauem Verschluss) in das Reagenzglas mit dem *Verdünnungspuffer*.

Externe negative Kontrolle – Geben Sie 100 µl *Verdünnungspuffer* in das Reagenzglas mit dem *Verdünnungspuffer*.

BITTE BEACHTEN: Ist die übertragene Probenmenge zu gering oder wird die Probe in der Verdünnungspuffer-Mischung nicht ausreichend gemischt und vollständig suspendiert, so kann dies zu einem falsch-negativen Testergebnis führen. Eine zu große Probenmenge kann aufgrund des beeinträchtigten Probenflusses zu ungültigen Ergebnissen führen.

TESTVERFAHREN

1. Nehmen Sie eine *Testkarte* pro Probe und eine *Testkarte* pro externer positiver oder negativer Kontrolle (optional) zur Hand. Bringen Sie die Folienbeutel mit den Testkarten vor dem Öffnen auf Raumtemperatur. Verwenden Sie die Testkarte sofort nach dem Öffnen. Beschriften Sie jede Karte ordnungsgemäß, und legen Sie sie so auf eine flache Oberfläche, dass sich der Aufdruck „QUIK CHEK“ unten auf der Karte und die kleine *Probenvertiefung* in der rechten oberen Ecke der Karte befinden.



2. Verschließen Sie alle Reagenzgläser mit den verdünnten Proben, und mischen Sie gründlich. Gründliches Mischen erzielen Sie mittels Vortexen oder Umdrehen des Reagenzglases. Nach der Verdünnung einer Patientenprobe oder *positiven Kontrolle* in der *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung kann diese bei einer Temperatur zwischen 2 °C und 8 °C für eine beliebig lange Zeitdauer bis max. 24 Stunden vor dem Übertragen auf die Testkarte inkubiert werden.
3. Mithilfe einer neuen Transferpipette übertragen Sie 500 µl der verdünnten Proben-Konjugat-Mischung in die **Probenvertiefung** (kleineres Loch in der oberen rechten Ecke der Karte) einer *Testkarte*. Stellen Sie dabei sicher, dass die flüssige Probe auf das Wicking-Pad im Inneren der *Testkarte* gelangt. Stellen Sie bei der Ausgabe der Probe in die Probenvertiefung sicher, dass die Spitze der Transferpipette auf das *Reaktionsfenster* zeigt (größeres Loch in der Mitte der Testkarte).
4. Inkubieren Sie die Testkarte 15 Minuten bei Raumtemperatur – die Probe sickert durch die Karte, und eine Feuchtstelle breitet sich im *Reaktionsfenster* aus.

HINWEIS FÜR PROBEN, DIE NICHT MIGRIEREN:

In manchen Fällen verstopft eine verdünnte Stuhlprobe die Membran, und das Reaktionsfenster wird nicht richtig feucht. Dies lässt sich normalerweise auf die Zugabe einer zu großen Stuhlprobenmenge zum Verdünnungspuffer zurückführen. Wenn die verdünnte Stuhlprobe innerhalb von 5 Minuten nach Zugabe der Probe nicht richtig in die Probenvertiefung wandert (d. h. die Membran im Reaktionsfenster nicht vollständig durchfeuchtet ist), geben Sie 100 µl (4 Tropfen) Verdünnungspuffer in die Probenvertiefung, und warten Sie weitere 5 Minuten (insgesamt 20 Minuten). Migriert die Probe auch dann nicht, so muss sie erneut getestet werden.

5. Nach der Inkubation geben Sie 300 µl *Waschpuffer* in das **Reaktionsfenster**. Verwenden Sie dazu den geeichten weißen Tropfer (oder Ähnliches). Warten Sie, bis der *Waschpuffer* durch die Membran des *Reaktionsfensters* geflossen und vollständig absorbiert ist.

6. Geben Sie 2 Tropfen *Substrat* (Flasche mit weißem Verschluss) auf das **Reaktionsfenster**. Lesen Sie die Ergebnisse nach 10 Minuten visuell ab, und protokollieren Sie sie.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

- Die Interpretation des Tests ist am verlässlichsten, wenn die Ergebnisse sofort nach Ende der Reaktionszeit abgelesen werden. Lesen Sie die Testkarte bei normalem Arbeitsabstand und in einer gut beleuchteten Umgebung ab. Folgen Sie einer Sichtlinie direkt über der Testkarte. Ein positives Ergebnis kann innerhalb des Zeitraums zwischen der Beigabe des *Substrats* und der 10-minütigen Ablesezeit interpretiert werden. Ein Test kann erst frühestens 10 Minuten nach erfolgter Beigabe des *Substrats* als negativ oder ungültig interpretiert werden.
- Prüfen Sie, ob in der Mitte des *Reaktionsfensters* blaue Punkte, die sogenannte interne positive Kontrolle, sichtbar sind. Prüfen Sie, ob blaue Linien auf den beiden Seiten der Kontrollpunkte (*Giardia* rechts, *Cryptosporidium* links) sichtbar sind. Die Farbintensität der Linien kann schwach bis stark sein.
- Positives *Giardia*-Ergebnis (Abb. 1b, Abb. 1c):** Die Kontrollpunkte und die *Giardia*-Linie (auf der rechten Seite des *Reaktionsfensters*) sind sichtbar. Die Farbintensität der Linien kann schwach bis stark sein - eine blaue Linie auf der rechten Seite der Kontrollpunkte gilt als positiv. Interpretieren Sie eine Membranverfärbung nicht als positives Ergebnis. Ein positives Ergebnis zeigt an, dass *Giardia*-Antigen und eine ordnungsgemäß reaktive positive Kontrolllinie vorhanden sind.
- Positives *Cryptosporidium*-Ergebnis (Abb. 1b, Abb. 1c):** Die Kontrollpunkte und die *Cryptosporidium*-Linie (auf der linken Seite des *Reaktionsfensters*) sind sichtbar. Die Farbintensität der Linien kann schwach bis stark sein - eine blaue Linie auf der linken Seite der Kontrollpunkte gilt als positiv. Interpretieren Sie eine Membranverfärbung nicht als positives Ergebnis. Ein positives Ergebnis zeigt an, dass *Cryptosporidium*-Antigen und eine ordnungsgemäß reaktive positive Kontrolllinie vorhanden sind.
- Negatives Ergebnis (Abb. 1a):** Nur die Kontrollpunkte in der Mitte des *Reaktionsfensters* sind sichtbar. Es sind keine Linien sichtbar. Ein negatives Ergebnis zeigt an, dass entweder kein *Giardia*- bzw. *Cryptosporidium*-Antigen in der Probe vorhanden ist oder die Antigenkonzentration unter der Nachweisgrenze dieses Tests liegt.
- Ungültiges Ergebnis (Abb. 1e-1h):** Der Test ist ungültig, wenn nach abgeschlossener Reaktion keine Kontrollpunkte sichtbar sind (Abb. 1e-1h).

ABBILDUNG 1: GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

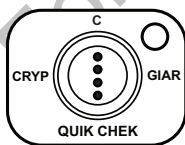


Abbildung 1a
Negatives Ergebnis

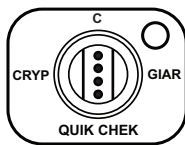


Abbildung 1b
Positives *Giardia*- und
Cryptosporidium-
Ergebnis

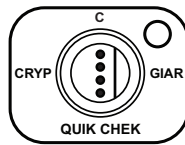


Abbildung 1c
Positives *Giardia*-
Ergebnis

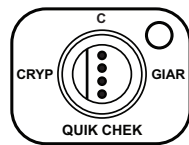


Abbildung 1d
Positives
Cryptosporidium-
Ergebnis

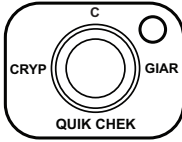


Abbildung 1e
Ungültiges Ergebnis

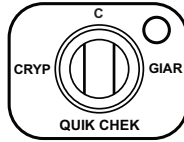


Abbildung 1f
Ungültiges Ergebnis

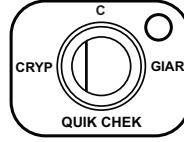


Abbildung 1g
Ungültiges Ergebnis

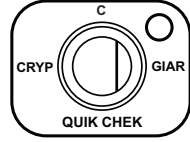


Abbildung 1h
Ungültiges Ergebnis

QUALITÄTSKONTROLLE

Intern: Auf jeder Testkarte muss nach dem Test eine gepunktete blaue Linie in der Mitte des *Reaktionsfensters* unter dem „C“ sichtbar sein. Die blaue gepunktete Kontrolllinie bestätigt, dass Probe und Reagenzien korrekt zugegeben wurden, die Reagenzien während des Testverlaufs aktiv waren und eine korrekte Probenmigration durch die Testkarte stattgefunden hat. Ein farbloser Hintergrund im Ergebnisbereich gilt als interne negative Kontrolle. Bei korrekt durchgeführtem Test und ordnungsgemäßer Funktion der Reagenzien ist der Hintergrund weiß, um ein erkennbares Ergebnis zu liefern.

Extern: Die Reaktivität des *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Kits muss bei Erhalt anhand der *positiven Kontrolle* und negativen Kontrolle (*Verdünnungspuffer*) überprüft werden. Die *positive Kontrolle* ist im Kit enthalten (Flasche mit grauem Verschluss). Die *positive Kontrolle* bestätigt die Reaktivität der anderen Reagenzien des Tests. Als negative Kontrolle wird der *Verdünnungspuffer* verwendet. Es können auch weitere Tests mit den Kontrollen durchgeführt werden, um die Anforderungen lokaler, landes- und/oder bundesweiter Vorschriften und/oder von Zertifizierungsbehörden zu erfüllen.

GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Der *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test dient zum Nachweis von *Giardia* und/oder *Cryptosporidium* in Stuhlproben. Der Test bestätigt das Vorhandensein von Antigen im Stuhl. Diese Information muss vom Arzt unter Berücksichtigung der Patientenanamnese und einer körperlichen Untersuchung des Patienten interpretiert werden.
2. Stuhlproben sind überaus komplex. Optimale Ergebnisse werden beim *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test mit Proben erzielt, die weniger als 72 Stunden alt sind. Die meisten unverdünnten Proben können bei 2 °C - 8 °C für 72 Stunden gelagert werden, bevor ein deutlicher Verfall des Antigens beobachtet wird. Wenn die Proben nicht innerhalb dieses Zeitraums getestet werden, können sie bis zu 90 Tage eingefroren und später wieder aufgetaut werden. Mehrmaliges Einfrieren und Auftauen kann allerdings zu verminderter Immunreaktivität des Antigens führen.
3. Einige Proben können schwach reagieren. Dies kann auf mehrere Faktoren zurückgeführt werden, wie etwa geringe Antigenkonzentration oder bindende Substanzen bzw. inaktivierende Enzyme im Stuhl. *Unter diesen Bedingungen sollte eine neue Stuhlprobe getestet werden.*
4. Der *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test ist qualitativ. Die Farbintensität darf nicht quantitativ interpretiert werden.
5. Die Verwendung von konzentrierten Stuhlproben wurde nicht beurteilt.

ERWARTUNGSWERTE

Normale, gesunde Personen sollten nicht mit *Giardia* oder *Cryptosporidium* infiziert sein und beim *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test negative Ergebnisse liefern. Ein positives Ergebnis beim *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test weist darauf hin, dass die Person nachweisbare Konzentrationen von *Giardia*- bzw. *Cryptosporidium*-Antigen ausschüttet. Die Häufigkeit von *Giardia*- und *Cryptosporidium*-Infektionen variiert beträchtlich je nach Population und geografischer Region. Bei Kindern in Tagesstätten wurden höhere *Giardia*-Infektionsraten als in der normalen Bevölkerung festgestellt (21). Außerdem haben sich bei homosexuellen Männern höhere Infektionsraten ergeben (22). Allgemein liegt die durch Laboruntersuchungen belegte Häufigkeit von Kryptosporidiose in Industrieländern insgesamt zwischen 1 % und 2 %, mit einer größeren Häufigkeit bei Kindern (23).

Prospektive Studien zur Beurteilung des *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Tests wurden in einem asiatischen Krankenhaus durchgeführt, das auf Durchfallerkrankungen spezialisiert ist. Die Studien wurden mit 129 frisch entnommenen Stuhlproben durchgeführt. Der *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test ergab ein positives Testergebnis für *Giardia*-Antigen bei 22,5% und für *Cryptosporidium*-Antigen bei 5,4 %.

LEISTUNGSDATEN

Die Leistung des *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Tests wurde an 3 verschiedenen geografischen Orten beurteilt. An Standort Nr. 1 und Standort Nr. 3 wurde die Leistung des *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Tests mit Mikroskopie (IFA) anhand von 220 frischen, 140 tiefgefrorenen, 216 in Formalin und 215 in NAF konservierten Proben verglichen. An Standort Nr. 1 und Standort Nr. 2 wurde die Leistung des *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Tests mit 2 handelsüblichen ELISA (vergleichbare Produkte für den Nachweis von *Giardia* und *Cryptosporidium*) anhand von 349 frischen, 322 tiefgefrorenen, 36 in Formalin und 142 in NAF konservierten Proben verglichen.

Leistungsvergleich mit Mikroskopie (IFA) - Zusammenfassung der Ergebnisse für Studienstandorte Nr. 1 und Nr. 3:

Für *Giardia* spp.

In der folgenden Tabelle sind die klinischen Leistungsdaten für den *Giardia*-Nachweis des *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Tests zusammengefasst. Die Ergebnisse zeigen, dass der *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test eine Sensitivität von 98,9%, eine Spezifität von 100% und eine Gesamtkorrelation von 99,7% mit Mikroskopie - IFA (gilt als Goldstandard) aufweist.

Zusammenfassung der Ergebnisse - klinische Leistung des *Giardia*-Nachweises des *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Tests im Vergleich mit Mikroskopie - IFA

| Az. = 791 | Mikroskopie - IFA <i>Giardia</i> -positiv | Mikroskopie - IFA <i>Giardia</i> -negativ |
|--|--|--|
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> <i>Giardia</i> -Linie positiv | 181 | 0 |
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> <i>Giardia</i> -Linie negativ | 2 | 608 |

| 95%-Konfidenzgrenzen | | |
|----------------------|-------|--------------|
| Sensitivität | 98,9% | 95,7 – 99,8% |
| Spezifität | 100% | 99,2 – 100% |
| Korrelation | 99,7% | 99,7 – 99,7% |

Für *Cryptosporidium* spp.

In der folgenden Tabelle sind die klinischen Leistungsdaten für den *Cryptosporidium*-Nachweis des *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Tests zusammengefasst. Die Ergebnisse zeigen, dass der *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test eine Sensitivität von 100%, eine Spezifität von 99,8% und eine Gesamtkorrelation von 99,9% mit Mikroskopie - IFA (gilt als Goldstandard) aufweist.

Zusammenfassung der Ergebnisse - klinische Leistung des *Cryptosporidium*-Nachweises des *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Tests im Vergleich mit Mikroskopie - IFA

| Az. = 791 | Mikroskopie - IFA <i>Crypto</i> -positiv | Mikroskopie - IFA <i>Crypto</i> -negativ |
|--|---|---|
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> <i>Cryptosporidium</i> -Linie positiv | 140 | 1 |
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> <i>Cryptosporidium</i> -Linie negativ | 0 | 650 |

| | | 95%-Konfidenzgrenzen |
|--------------|-------|----------------------|
| Sensitivität | 100% | 96,7 – 100% |
| Spezifität | 99,8% | 99,0 – 100% |
| Korrelation | 99,9% | 100 – 100% |

Leistungsvergleich mit zwei vergleichbaren Produkten (handelsübliche ELISA für den Nachweis von *Giardia* und *Cryptosporidium*) - Zusammenfassung der Ergebnisse für Studienstandort Nr. 1 und Nr. 2:

Die Ergebnisse unserer Leistungsbeurteilungen an Studienstandort Nr. 1 und Nr. 2 im Vergleich mit zwei handelsüblichen ELISA (vergleichbare Produkte für *Giardia* und *Cryptosporidium*) ergaben eine Übereinstimmung von 99,1% für *Giardia*-positive Proben und eine Übereinstimmung von 99,7% für *Giardia*-negative Proben. Die Gesamtübereinstimmung betrug 99,5%. Der Test ergab eine Übereinstimmung von 99,2% für *Cryptosporidium*-positive Proben und eine Übereinstimmung von 99,6% für *Cryptosporidium*-negative Proben. Die Gesamtübereinstimmung betrug 99,5%.

Giardia-Nachweis des *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Tests im Vergleich mit dem handelsüblichen ELISA für den Nachweis von *Giardia*

| Az. = 849 | Handelsüblichen ELISA - <i>Giardia</i> -positiv | Handelsüblichen ELISA - <i>Giardia</i> -negativ |
|--|--|--|
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> <i>Giardia</i> -Linie positiv | 213 | 2 |
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> <i>Giardia</i> -Linie negativ | 2 | 632 |

| | | 95%-Konfidenzgrenzen |
|-------------------------------|-------|----------------------|
| Positive Übereinstimmung in % | 99,1% | 96,3 – 99,8% |
| Negative Übereinstimmung in % | 99,7% | 98,7 – 99,9% |
| Gesamtübereinstimmung in % | 99,5% | 99,5 – 99,5% |

Cryptosporidium-Nachweis des GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ Tests im Vergleich mit dem handelsüblichen ELISA für den Nachweis von Cryptosporidium

| | | |
|---|---|---|
| Az. = 849 | Handelsüblichen ELISA - <i>Cryptosporidium</i> -positiv | Handelsüblichen ELISA - <i>Cryptosporidium</i> -negativ |
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ <i>Cryptosporidium</i> -Linie positiv | 130 | 3 |
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ <i>Cryptosporidium</i> -Linie negativ | 1 | 715 |

| | | 95%-Konfidenzgrenzen |
|-------------------------------|-------|----------------------|
| Positive Übereinstimmung in % | 99,2% | 95,2 – 100% |
| Negative Übereinstimmung in % | 99,6% | 98,7 – 99,9% |
| Gesamtübereinstimmung in % | 99,5% | 99,5 – 99,5% |

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität des Tests wurden negative menschliche Stuhlproben mit gereinigten, anhand von Immunfluoreszenz-Mikroskopie quantifizierten *Giardia*-Zysten oder *Cryptosporidium*-Oozysten versetzt. Die Konzentration an *Giardia*-Zysten und *Cryptosporidium*-Oozysten in Stuhlmatrix, wo Proben beim GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ zu 95% positiv waren, wurde zur Definition der Nachweisgrenze (NG) des Tests herangezogen. Anhand der Testergebnisse ergab sich eine NG von 6000 Zysten/ml Stuhl für *Giardia* (entspricht 133 nachgewiesenen Zysten pro Test) und 6000 Oozysten/ml Stuhl für *Cryptosporidium* (entspricht 133 nachgewiesenen Oozysten pro Test). Da der GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ Test neben Zysten und Oozysten auch lösliches Antigen in Stuhlproben nachweist, ist diese NG-Studie als Schätzung der analytischen Sensitivität auf der Basis von gereinigten *Giardia*-Zysten und *Cryptosporidium*-Oozysten zu verstehen. Klinische Stuhlproben enthalten unterschiedliche Konzentrationen an freiem Antigen pro *Giardia*-Zyste bzw. *Cryptosporidium*-Oozyste.

REPRODUZIERBARKEIT

Insgesamt wurden 22 Stuhlproben anhand handelsüblicher vergleichbarer Produkte vorcharakterisiert. Die Proben umfassten 6 *Giardia*-positive Proben (3 mäßig positiv), 6 *Cryptosporidium*-positive Proben (3 schwach positiv) und 4 *Giardia/Cryptosporidium*-positive Proben (2 davon schwach positiv für *Giardia* und 2 schwach positiv für *Cryptosporidium*) sowie 6 Proben, die für beide Parasiten negativ waren. Alle Proben wurden zur Identifikationsverhinderung während des Tests kodiert. Die Tests wurden an 3 Standorten durchgeführt. Die Proben wurden zweimal täglich über einen Zeitraum von 5 Tagen von mehreren Laborkräften an den einzelnen Standorten getestet. Es wurden jeweils 2 verschiedene Kitchargen verwendet. Mit jeder maskierten Probenreihe wurden eine positive und eine negative Kontrolle mitgetestet. Die Ergebnisse der einzelnen Labors wurden anschließend an TECHLAB, Inc. gesandt und mit internen Ergebnissen verglichen. Die Ergebnisse der verschiedenen Standorte waren durchgehend konsistent und ergaben eine Korrelation von 100%. An allen Standorten lieferten die positiven Proben beim GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ Test durchgehend ein positives Ergebnis und die negativen Proben durchgehend ein negatives Ergebnis.

KREUZREAKTIVITÄT

Der *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test wurde auf Kreuzreaktivität mit den folgenden Bakterien- und Virenstämmen geprüft. Keiner dieser Stämme zeigte eine Kreuzreaktivität mit dem *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test.

| | |
|---|--|
| <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 bifermentans</i> | <i>Clostridium difficile</i> (strain 630) |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| <i>Escherichia coli</i> 0157:H7 | <i>Escherichia coli</i> ETEC (enterotoxigenic) |
| <i>Escherichia coli</i> EPEC (enteropathogenic) | <i>Escherichia coli</i> EIEC (enteroinvasive) |
| <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> (Cowan's) | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | <i>Yersinia enterocolitica</i> |
| Human Adenovirus 1 and 3 | Adenovirus, Type 2, 5, 40 and 41 |
| Human Coxsackievirus B2, B3, and B4 | Coxsackievirus B5 |
| Human Coronavirus | Echovirus 11, 18, 33 |
| Human Echovirus 9 | Human paraechovirus 1 (Echovirus 22) |
| Enterovirus 68, 69 | Human Enterovirus 70, 71 |
| Human rotavirus | |

Zudem wurden Stuhlproben mit dem *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test getestet, die bei der Mikroskopie ein positives Ergebnis für andere Parasiten lieferten. Weder für den *Giardia*-Nachweis noch den *Cryptosporidium*-Nachweis des Tests ließ sich eine Kreuzreaktivität mit den folgenden Organismen feststellen. Eine Kreuzreaktivität mit Astrovirus und Caliciviren wurde nicht ermittelt.

| | |
|----------------------------------|--|
| <i>Ascaris lumbricoides</i> eggs | <i>Blastocystis hominis</i> |
| <i>Chilomastix mesnili</i> | <i>Cyclospora cayentanensis</i> |
| <i>Dientamoeba fragilis</i> | <i>Diphyllobothrium latum</i> eggs |
| <i>Endolimax nana</i> | <i>Entamoeba coli</i> |
| <i>Entamoeba hartmanni</i> | <i>Entamoeba histolytica/E. dispar</i> |
| Hookworm eggs | <i>Iodamoeba bütschlii</i> |
| <i>Trichuris trichiura</i> eggs | |

INTERFERIERENDE SUBSTANZEN (US-Formulierungen)

Die folgenden Substanzen hatten in den angegebenen Konzentrationen keinen Einfluss auf die positiven oder negativen Testergebnisse: Mucin aus dem Schweinemagen (3,5% w/v), humanes Blut (40% v/v), Bariumsulfat (5% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Stearinsäure/Palmitinsäure (40% w/v), Metronidazol (0,25% w/v), Vancomycin (0,25% w/v).

KOMPATIBILITÄT MIT KONSERVIERUNGSMITTELN

Der *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Test wurde intern auf Kompatibilität mit konservierten Stuhlproben untersucht. Bei Stuhlproben, die in 10 % gepuffertem Formalin, Natriumacetat-Formalin (NAF), Cary Blair oder C&S konserviert waren, wurde im Vergleich mit frischen und eingefrorenen Stuhlproben keine Beeinträchtigung der Sensitivität oder Spezifität festgestellt.

INTRA-ASSAY-PRÄZISION

Für die Bestimmung der Intra-Assay-Leistung wurden 6 positive Stuhlproben (zwei positiv für *Giardia*, zwei positiv für *Cryptosporidium*, zwei positiv für *Giardia* sowie *Cryptosporidium*) und sechs negative Stuhlproben untersucht. Jede Probe wurde auf 5 Testkarten getestet. Alle positiven Proben blieben positiv und alle negativen negativ.

INTER-ASSAY-PRÄZISION

Für die Bestimmung der Inter-Assay-Leistung wurden 16 positive Stuhlproben (sechs positiv für *Giardia*, sechs positiv für *Cryptosporidium* und vier positiv für *Giardia* sowie *Cryptosporidium*) und sechs negative Stuhlproben zweimal täglich über einen Zeitraum von 4 Tagen mit dem *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* Kit getestet. Alle positiven Proben blieben positiv und alle negativen negativ.

For Informational Use Only

GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ - FRANÇAISE

UTILISATION PRÉVUE

Le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* est un test immunoenzymatique sur membrane rapide pour la détection et la différenciation qualitatives simultanées de l'antigène des kystes de *Giardia* et de l'antigène des oocystes de *Cryptosporidium* dans un dispositif de test unique. Il est destiné à être utilisé avec des échantillons de selles de patients humains souffrant de symptômes gastro-intestinaux pour déterminer la présence d'une infection due à la *Giardia* et/ou au *Cryptosporidium*. Les résultats obtenus doivent être évalués en association avec le dossier médical du patient.

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

EXPLICATION

La *Giardia* spp. est un parasite protozoaire flagellé binucléaire existant sous deux formes : un trophozoïte en forme de poire non infectieux (9 à 20 µm) que l'on trouve dans l'intestin grêle, et une forme de kyste elliptique hautement infectieuse et dont les dimensions varient de 8 à 12 µm (1). La survie de chacune de ces deux formes dans le milieu extérieur est très variable : extrêmement labile, le trophozoïte ne subsiste que quelques heures en dehors du corps tandis que la forme kyste peut survivre plusieurs jours dans des environnements externes (1). Les voyageurs sont susceptibles de contracter la lambliaose (ou giardiose) dans les régions où cette affection est endémique, notamment celles où les eaux sont contaminées (2-5). La transmission se produit aussi par contact direct, en particulier par le biais de porteurs asymptomatiques et par contamination de la nourriture (6-7). Les individus à haut risque incluent les enfants en bas âge, les patients immunodéficitaires et les personnes n'ayant jamais été exposées auparavant (8). Plus récemment, la lambliaose a été recensée parmi les maladies sexuellement transmissibles (9). La contamination par le biais des matières fécales d'origine animale —contamination de l'eau, notamment— est également une voie de transmission aux humains (4, 10, 11). Les manifestations cliniques de la lambliaose s'étendent du porteur asymptomatique qui transmet le kyste, aux diarrhées chroniques débilitantes et à la perte de poids et malabsorption (8, 12, 13). On considérait autrefois que le *Cryptosporidium* spp. —parasite protozoaire des vertébrés— ne provoquait de diarrhées que chez les animaux (14). La première infection humaine a été signalée en 1976 (15). Par la suite, le parasite a été associé au syndrome diarrhéique dans la plupart des régions du monde, s'avérant fréquemment responsable de la diarrhée du voyageur (14, 16). La maladie est transmise par l'oocyste à paroi épaisse (2-6 µm de diamètre), remarquablement résistant aux désinfectants courants et à la chloration de l'eau destinée à la consommation. La transmission d'une personne à une autre est commune, en particulier chez les enfants (17). Le *Cryptosporidium* a peu, voire aucun hôte spécifique ; les animaux —tels que les rongeurs, le bétail et les animaux de compagnie— sont de simples porteurs responsables de la transmission zoonotique à l'homme (14, 18), celle-ci se produisant soit par contact direct, soit par contamination fécale des points d'eau (14, 19-21). La cryptosporidie est une infection opportuniste sérieuse pour les personnes atteintes du SIDA (syndrome d'immunodéficience acquise) ; elle est d'ailleurs recensée parmi les maladies potentiellement transmissibles par voie sexuelle (19, 22). Les manifestations cliniques de la cryptosporidie sont les suivantes : diarrhées aiguës (semblables à celles que provoque le choléra), douleurs abdominales, nausées, vomissements et perte de poids. Chez les personnes en bonne santé, l'infection est généralement limitée et de courte durée. Chez les personnes atteintes du SIDA ou immunodéficitaires, la cryptosporidie peut entraîner une affection prolongée voire mortelle suite à une forte perte de liquides. Chez ces patients, l'infection peut par ailleurs se propager au système respiratoire et au système biliaire (19).

PRINCIPE DU TEST

Le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* utilise des anticorps monoclonaux et polyclonaux dirigés contre les antigènes de surface cellulaire des

organismes. Le dispositif comporte une *Fenêtre de réaction* avec trois bandes verticales d'anticorps immobilisés. La bande de test *Giardia* (« Giar ») contient des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre la *Giardia*. La bande de test *Crypto* (« Cryp ») contient des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre le *Cryptosporidium*. La bande de contrôle (« C ») est une bande en pointillés qui contient des anticorps anti-peroxydase de raifort (HRP). Le *Conjugué* est composé d'anticorps polyclonaux conjugués à la peroxydase de raifort. Pour réaliser le test, l'échantillon est ajouté à un tube contenant un mélange de *Diluant* et de *Conjugué*. Le mélange conjugué-échantillon dilué est placé dans le *Micropuits d'échantillon* et le dispositif est soumis à une période d'incubation de 15 minutes à température ambiante. Pendant l'incubation, les antigènes des kystes et/ou des oocystes présents dans l'échantillon se lient aux conjugués anticorps-peroxydase. Les complexes conjugués-anticorps-antigènes migrent à travers un filtre vers une membrane où ils sont capturés par les anticorps immobilisés spécifiques à la *Giardia* et/ou au *Cryptosporidium* sur les bandes de test. La *Fenêtre de réaction* est ensuite lavée avec un *Tampon de lavage* puis remplie de *Substrat*. Au bout de 10 minutes d'incubation, la réaction et l'apparition d'une ligne bleue verticale du côté de la *Fenêtre de réaction* sont observées. Une ligne bleue indique un test positif. Une réaction du « contrôle » positive, indiquée par une ligne bleue verticale en pointillés, dans la zone de contrôle « C » de la *Fenêtre de réaction*, confirme que le test fonctionne correctement et que les résultats sont valides.

MATÉRIEL FOURNI

MEM | DEV *Dispositifs à membranes* – un sachet contenant 1 dispositif
DIL | SPE *Diluant* (20 ml) – Solution tamponnée et protéinée avec compte-gouttes gradué*

WASH | REAG *Tampon de lavage* (12 ml) – Solution tamponnée avec compte-gouttes gradué*

SUBS | REAG *Substrat* (3,5 ml) – Solution contenant du tétraméthylbenzidine

CONJ | ENZ *Conjugué* (2,0 ml) – Anticorps polyclonal dirigé contre un antigène de surface cellulaire de la *Giardia* conjugué à de la peroxydase de raifort et un anticorps polyclonal dirigé contre l'antigène de surface cellulaire du *Cryptosporidium* conjugué à de la peroxydase de raifort dans une solution tamponnée et protéinée*.

CONTROL | + *Contrôle positif* (2,5 ml) – Antigènes de la *Giardia* et du *Cryptosporidium* désactivés dans une solution tamponnée et protéinée*

Pipettes en plastique jetables – graduées à 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL et 500 µL

*contient du ProClin® 300 0,05%

Mot indicateur : Avertissement

H317 : Risque de réactions cutanées allergiques

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



MATÉRIEL ET ÉQUIPEMENTS NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Petits tubes à essai (par exemple des tubes en plastique Eppendorf)

Minuterie

Gants jetables pour manipuler les échantillons de selles

Écouvillons

Agitateur vortex

Pipeteur et embouts

DURÉE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date d'expiration du kit est indiquée sur l'étiquette. La date d'expiration de chaque composant est indiquée sur chaque étiquette. Le kit doit être conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C.

PRÉCAUTIONS À PRENDRE

1. Rx Only - Sur ordonnance uniquement
2. Pour une utilisation diagnostique *in vitro*. Uniquement à usage professionnel.

3. Contrôler tous les éléments du kit afin de vérifier qu'ils ne présentent aucun signe de fuite. Examiner le kit dès réception afin de vérifier que les éléments ne sont ni glacés ni chauds au toucher en raison de conditions de transports inadéquates.
4. Le *Substrat* doit être incolore. Si le *Substrat* prend une couleur bleu foncé / violet, le jeter et appeler les services techniques pour procéder à un remplacement.
5. Les réactifs des différents kits ne doivent pas être mélangés. Ne pas utiliser de kit dont la date d'expiration serait dépassée.
6. Les capsules, les embouts et les compte-gouttes sont classés par couleur. Ne PAS les mélanger !
7. Placer tous les composants à TEMPÉRATURE AMBIANTE AVANT UTILISATION !
8. Ne pas congeler les réactifs. Le kit doit être conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C.
9. Le sachet contenant le *Dispositif à membrane* doit être à température ambiante avant ouverture. Maintenir les dispositifs à membranes au sec avant de les utiliser.
10. Verser les réactifs en tenant les flacons à réactifs verticalement de façon à dispenser une goutte de taille adéquate et des volumes corrects.
11. La contamination microbienne des réactifs peut réduire l'exactitude de l'analyse. Éviter la contamination microbienne des réactifs en utilisant des pipettes stériles jetables pour extraire les aliquotes des flacons à réactifs.
12. Les dispositifs à membranes ne peuvent pas être réutilisés.
13. Le test a été optimisé dans le sens de la sensibilité et de la spécificité. Toute modification de la procédure spécifiée et/ou des conditions de test peut altérer la sensibilité et la spécificité du test. Procéder conformément à la procédure spécifiée.
14. Vérifier la durée totale de l'analyse si plusieurs échantillons de selles sont testés. Ajouter d'abord le *Diluant* puis le *Conjugué* dans chaque tube de *Diluant*. Introduire ensuite l'échantillon dans le tube de *Diluant/Conjugué*. Mélanger soigneusement tous les échantillons dilués puis les transférer dans le *Dispositif à membrane*. L'étape d'incubation de 15 minutes commence dès que le dernier mélange conjugué-échantillon dilué est transféré sur le *Dispositif à membrane*.
15. Ne pas concentrer les échantillons avant le test.
16. Utiliser les échantillons de selles frais dans les 72 heures suivant le prélèvement, et ce afin d'obtenir les meilleurs résultats possibles. Les échantillons congelés peuvent être moins actifs suite à la congélation et à la décongélation. En cas d'utilisation d'échantillons congelés, les décongeler à température ambiante.
17. Ce test est compatible avec les échantillons conservés dans du formol à 10 %, du formol d'acétate de sodium et du milieu de transport tel qu'un Cary Blair ou un C&S lorsque les consignes de « Préparation des échantillons » suivantes, indiquées sur la notice, sont respectées. Cependant, le test n'est pas compatible avec les autres conservateurs et milieux de transport.
18. Après leur utilisation, les échantillons et les dispositifs à membranes doivent être manipulés et jetés de la même façon que des matières présentant un danger biologique. S'équiper de gants jetables pendant le test.
19. Les échantillons de selles peuvent contenir des agents potentiellement infectieux et doivent être manipulés selon le « Niveau de biosécurité 2 », comme le recommande le manuel du CDC/NIH, « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ».
20. Les réactifs du *Conjugué*, *Diluant*, *Contrôle positif* et *Tampon de lavage* contiennent 0,05 % de ProClin® 300 comme conservateur. Même si la concentration est faible, le ProClin® 300 est connu pour sa nocivité (risque de sensibilisation de la peau). En cas de sensibilisation/irritation de la peau ou d'éruption cutanée, consulter un médecin. Les vêtements contaminés doivent être ôtés puis lavés avant d'être réutilisés. Manipuler les réactifs selon les réglementations existantes relatives à la sécurité des laboratoires et les bonnes pratiques de laboratoire. Les fiches de sécurité de ce produit sont disponibles à la demande. Contacter le support technique.
21. Respecter les arrêtés locaux, régionaux et nationaux relatifs aux réglementations sur l'élimination des déchets.

PRÉLÈVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS DE SELLES FRAIS

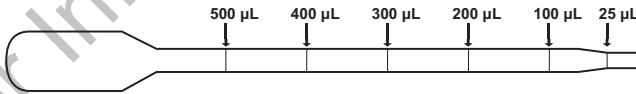
Les échantillons prélevés dans le but de pratiquer un examen de routine pour les ovules et les parasites peuvent être utilisés avec le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™*. Les échantillons de selles doivent être prélevés dans des conteneurs propres et étanches.

1. Les procédures standard utilisées sur place pour le prélèvement et la manipulation des échantillons de selles sont appropriées.
2. Les échantillons frais et non traités doivent être stockés à une température comprise entre 2 et 8 °C. Utiliser de préférence des échantillons frais de moins de 72 heures. Congeler les échantillons frais (≤ -10 °C) pendant un maximum de 90 jours si le test ne peut être réalisé dans un délai de 72 heures après le prélèvement. Attention : la congélation et la décongélation d'un échantillon peuvent entraîner une perte d'activité due à la dégradation de l'antigène. Éviter les congélations-décongélation multiples. En cas d'utilisation d'échantillons congelés, les décongeler à température ambiante.
3. Les échantillons de selles concentrés ou traités avec des fixateurs PVA ne doivent pas être utilisés avec ce test.
4. Veiller à ce que les échantillons soient bien mélangés AVANT de réaliser l'essai.
5. Le stockage des échantillons de selles dans le *Diluant* est déconseillé.

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

1. Placer tous les réactifs et le nombre de dispositifs nécessaires à température ambiante avant de les utiliser.
2. Préparer et étiqueter un petit tube à essai pour chaque échantillon et pour chaque contrôle supplémentaire externe.
3. À l'aide du compte-gouttes gradué gris, ajouter 500 μL (2^{ème} graduation depuis l'extrémité) de *Diluant* dans chaque tube d'échantillon de selles. Pour les échantillons inclus dans un fixateur ou un milieu de transport tel que le formol à 10 %, ajouter 400 μL de *Diluant* dans le tube. Pour les contrôles externes, ajouter 400 μL de *Diluant* dans chaque tube.
4. Ajouter une goutte de *Conjugué* (bouteille à capsule rouge) dans chaque tube.
5. Prendre une pipette de transfert jetable en plastique (fournie avec le kit) pour chaque échantillon – les pipettes présentent des graduations en relief à 25 μL , 100 μL , 200 μL , 300 μL , 400 μL et 500 μL .

Pipette de transfert graduée :



6. Mélanger complètement tous les échantillons indépendamment de leur consistance. Les échantillons doivent tous être parfaitement suspendus avant transfert.

Échantillons liquides ou semi-solides – Prélever 25 μL d'échantillon avec une pipette de transfert (graduée à 25 μL , 100 μL , 200 μL , 300 μL , 400 μL et 500 μL) puis verser l'échantillon dans le mélange de *Diluant/Conjugué*. Utiliser la même pipette de transfert pour mélanger l'échantillon dilué.

Échantillons formés ou solides – Veiller à ajouter la quantité adéquate d'échantillons de selles au mélange témoin. Mélanger complètement l'échantillon à l'aide d'un écouvillon en bois et transférer un petit fragment (de 2 mm de diamètre environ, équivalent à 25 μL) de l'échantillon dans le mélange de *Diluant/Conjugué*. Émulsionner l'échantillon à l'aide de l'écouvillon.

Échantillons de selles inclus dans un fixateur ou un milieu de transport – Prélever 100 μL (2 gouttes de la pipette de transfert) d'échantillon et les introduire dans le mélange de *Diluant/Conjugué*.

7. Échantillons témoins externes facultatifs :

Contrôle positif externe – Ajouter quatre gouttes de *Contrôle positif* (bouteille à capsule grise) dans le tube à essai approprié contenant du *Diluant*.

Contrôle négatif externe – Ajouter 100 µl de *Diluant* dans le tube à essai approprié contenant du *Diluant*.

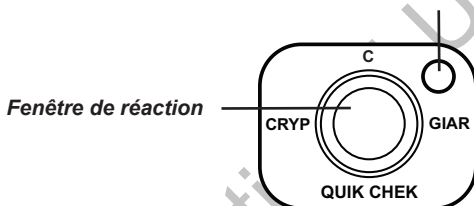
REMARQUE : si le fragment transféré est trop petit, si le mélange est défectueux ou si l'échantillon n'est pas complètement suspendu dans le mélange dilué, les résultats obtenus peuvent se révéler faussement négatifs. Une trop grande quantité de selles peut donner des résultats nuls à cause du débit limité.

PROCÉDURE DE TEST

- Prendre un *Dispositif à membrane* par échantillon et un *Dispositif à membrane* par contrôle facultatif externe positif ou négatif. Les sachets en aluminium contenant les dispositifs doivent être mis à température ambiante avant ouverture. Utiliser le dispositif immédiatement après ouverture. Étiqueter chaque dispositif correctement et l'orienter sur une surface plane de sorte que la mention « QUIK CHEK » se trouve en bas du dispositif et que le *Micropuits d'échantillon* se trouve dans l'angle supérieur droit du dispositif.

Dispositif à membrane

Micropuits d'échantillon



2. Fermer chaque tube d'échantillon dilué et mélanger complètement. Pour obtenir un mélange approprié, procéder par mixage ou agitation du tube. Dès qu'un échantillon de patient ou un *Contrôle positif* a été dilué dans le mélange *Diluant/Conjugué*, il peut être incubé entre 2 et 8 °C pendant n'importe quelle durée jusqu'à 24 heures avant d'être ajouté au *Dispositif à membrane*.
3. À l'aide d'une pipette de transfert neuve, transférer 500 µl du mélange échantillon-conjugué dilué dans le **Micropuits d'échantillon** (petite cavité située dans le coin supérieur droit du dispositif) d'un *Dispositif à membrane*, en veillant à bien expulser l'échantillon liquide sur la garniture perméable située à l'intérieur du *Dispositif à membrane*. Lors de l'introduction de l'échantillon dans le micropuits, veiller à ce que l'extrémité de la pipette de transfert soit inclinée en direction de la *Fenêtre de réaction* (grande cavité au centre du dispositif).
4. Laisser incuber le dispositif à température ambiante pendant 15 minutes – l'échantillon sera absorbé par le dispositif et une zone humide apparaîtra dans la *Fenêtre de réaction*.

NOTE CONCERNANT LES ÉCHANTILLONS NE MIGRANT PAS :

Il peut arriver qu'un échantillon de selles dilué obstrue la membrane et que la Fenêtre de réaction ne s'imbibe pas correctement. En général, cela est dû à l'ajout d'une quantité d'échantillon de selles trop important dans le Diluant d'échantillon. Si l'échantillon de selles dilué ne semble pas migrer correctement 5 minutes après avoir versé l'échantillon dans le Micropuits d'échantillon (si la membrane de la Fenêtre de réaction ne semble pas être complètement humide), ajouter 100 µl (4 gouttes) de Diluant dans le Micropuits d'échantillon et attendre 5 minutes supplémentaires (20 minutes au total). Si l'échantillon ne migre toujours pas, le re-tester.

- Après incubation, ajouter 300 µl de *Tampon de lavage* à l'aide du compte-gouttes blanc gradué (ou équivalent) dans la **Fenêtre de réaction**. Laisser le *Tampon de lavage* pénétrer la *Fenêtre de réaction* et veiller à ce qu'il soit complètement absorbé.
- Verser 2 gouttes de *Substrat* (bouteille à capsule blanche) dans la **Fenêtre de réaction**. Lire et consigner les résultats visuels observés au bout de 10 minutes.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- L'interprétation du test est plus fiable lorsque le dispositif est lu immédiatement à la fin de la période de réaction. Lire le dispositif à une distance normale dans une pièce bien éclairée en regardant directement le dessus du dispositif à la verticale. Un résultat positif peut être interprété à tout moment entre l'adjonction de *Substrat* et le temps de lecture (10 minutes). Cependant, les tests ne peuvent pas être interprétés comme négatifs ou nuls moins de 10 minutes après l'adjonction du *Substrat*.
- Observer si une ligne en pointillés bleue apparaît au centre de la *Fenêtre de réaction* : il s'agit du contrôle positif interne. Observer l'apparition de lignes bleues d'un côté ou de l'autre des bandes de contrôle (*Giardia* à droite, *Cryptosporidium* à gauche). Les bandes peuvent présenter une couleur claire à foncée.
- Résultat positif pour Giardia (Fig. 1b, Fig. 1c) :** Les bandes de contrôle et la ligne *Giardia* (à droite de la *Fenêtre de réaction*) sont visibles. Les lignes peuvent présenter une couleur claire à foncée ; la ligne bleue qui apparaît éventuellement du côté droit des bandes de contrôle est considérée comme positive. La décoloration de la membrane ne peut pas être interprétée comme un résultat positif. Un résultat positif indique la présence de l'antigène de la *Giardia* et une bande de contrôle positive correctement réactive.
- Résultat positif pour Cryptosporidium (Fig. 1b, Fig. 1d) :** Les bandes de contrôle et la ligne *Cryptosporidium* (à gauche de la *Fenêtre de réaction*) sont visibles. Les lignes peuvent présenter une couleur claire à foncée ; la ligne bleue qui apparaît éventuellement du côté gauche des bandes de contrôle est considérée comme positive. La décoloration de la membrane ne peut pas être interprétée comme un résultat positif. Un résultat positif indique la présence de l'antigène du *Cryptosporidium* et une bande de contrôle positive correctement réactive.
- Résultat négatif (Fig. 1a) :** Seules les bandes de contrôle situées au milieu de la *Fenêtre de réaction* sont visibles. Aucune ligne n'est visible. Un résultat négatif indique que les antigènes de la *Giardia* et du *Cryptosporidium* sont soit absents de l'échantillon, soit présents à un taux inférieur aux seuils détectables de ce test.
- Résultat nul (Fig. 1e-1h) :** Le test est nul si les bandes de contrôle n'apparaissent pas à la fin de la période de réaction (Figures 1e-1h).

FIGURE 1 : INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DU TEST *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™*



Figure 1a
Résultat négatif

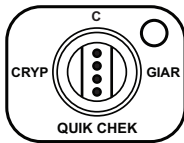


Figure 1b
Résultat positif pour
la *Giardia* et
le *Cryptosporidium*

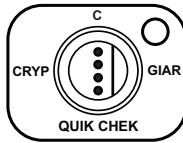


Figure 1c
Résultat positif pour
la *Giardia*

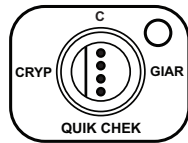


Figure 1d
Résultat positif pour
le *Cryptosporidium*

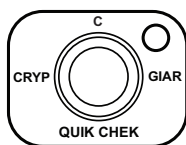


Figure 1e
Résultat nul

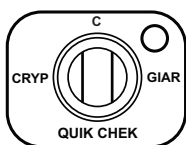


Figure 1f
Résultat nul

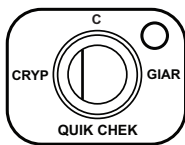


Figure 1g
Résultat nul

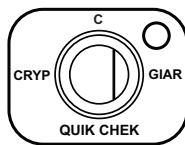


Figure 1h
Résultat nul

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Interne : une bande de contrôle en pointillés bleue doit être visible au centre de la *Fenêtre de réaction*, sous le « C », pour chaque *Dispositif à membrane* utilisé. L'apparition de la bande de contrôle en pointillés bleue confirme que l'échantillon et les réactifs ont été correctement ajoutés, que les réactifs étaient actifs au moment de la réalisation de l'essai et que l'échantillon a bien migré via le *Dispositif à membrane*. Un fond clair dans la zone résultat est considéré comme un contrôle interne négatif. Si le test a été réalisé correctement et que les réactifs fonctionnent, le fond est blanc afin de fournir un résultat discernable.

Externe : la réactivité du kit *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* doit être vérifiée dès réception à l'aide du *Contrôle positif* et du contrôle négatif (*Diluant*). Le *Contrôle positif* est fourni avec le kit (bouteille à capsule grise). Le *Contrôle positif* confirme la réactivité des autres réactifs associés au test. Le *Diluant* est utilisé pour le contrôle négatif. Des tests supplémentaires peuvent être réalisés à l'aide des contrôles pour répondre aux exigences des réglementations locales, nationales et/ou fédérales et/ou des organismes d'accréditation.

LIMITES

1. Le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* permet de détecter la *Giardia* et/ou le *Cryptosporidium* dans des échantillons de selles. Il confirme la présence d'antigènes dans les selles et ces informations doivent être examinées par le médecin avec le dossier médical du patient et l'examen physique de ce dernier.
2. Les échantillons de selles sont extrêmement complexes. Le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* permet d'obtenir des résultats optimaux si les échantillons de selles ont été prélevés moins de 72 heures à l'avance. La plupart des échantillons frais non dilués peuvent être stockés à une température comprise entre 2 °C et 8 °C pendant 72 heures avant qu'une dégradation de l'antigène ne puisse être observée. Si les échantillons ne sont pas testés pendant cette période, ils peuvent être congelés puis décongelés pendant un maximum de 90 jours. Toutefois, la congélation et la décongélation peuvent entraîner l'immuno-réactivité de l'antigène.
3. Certains échantillons peuvent entraîner des réactions faibles. Ce phénomène peut découler d'un certain nombre de facteurs tels que la présence de faibles niveaux d'antigène, la présence de substances anticorps ou la désactivation des enzymes dans les selles. Le cas échéant, tester un échantillon frais.
4. *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* est un test qualitatif. L'intensité de la couleur ne doit pas être interprétée en termes quantitatifs.
5. L'utilisation d'échantillons de selles concentrées n'a pas été évaluée.

VALEURS ATTENDUES

Les individus en bonne santé ne sont normalement pas infectés par la *Giardia* ou le *Cryptosporidium* et doivent obtenir un résultat négatif au test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™*. Un résultat positif au test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* indique que l'individu sécrète une quantité détectable d'antigène de la *Giardia* et/ou du *Cryptosporidium*. L'incidence des infections dues à la

Giardia et au *Cryptosporidium* varie de façon significative en fonction des populations et des zones géographiques. Les enfants fréquentant un environnement de garde présentent des taux d'infection à la *Giardia* plus élevés que la population normale (21). Les homosexuels hommes présentent également des taux d'infection plus élevés (22). En général, d'après des études effectuées en laboratoire, l'incidence de la cryptosporidie dans les pays développés est comprise entre 1 et 2 %, cette incidence étant plus élevée chez les enfants (23).

Les études prospectives visant à évaluer le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* ont été effectuées dans un hôpital asiatique spécialisé dans les maladies diarrhéiques. Les études ont été effectuées sur des échantillons de selles fraîchement prélevés. Un résultat positif au test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* a été obtenu dans 22,5 % des cas pour l'antigène de la *Giardia* et 5,4 % pour l'antigène du *Cryptosporidium*.

EFFICACITÉ DU TEST

L'efficacité du test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* a été évaluée sur 3 sites géographiquement distincts. Sur les sites n° 1 et 3, l'efficacité du test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* a été comparée à la microscopie (IFA) en incluant 220 échantillons frais, 140 congelés, 216 conservés dans du formol d'acétate de sodium et 215 conservés dans du SAF. Sur les sites n° 1 et 2, l'efficacité du test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* a été comparée à deux tests ELISA disponibles dans le commerce (dispositifs de prédiction pour la *Giardia* et le *Cryptosporidium*) en incluant 349 échantillons frais, 322 congelés, 36 conservés dans du formol d'acétate de sodium et 142 conservés dans du SAF.

Efficacité comparée à la microscopie (IFA) – Résultats combinés pour les sites d'étude n° 1 et 3 :

Pour la *Giardia* spp.

Le tableau suivant présente un résumé de l'efficacité clinique de la partie *Giardia* du test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™*. Les résultats montrent que le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* a présenté une sensibilité de 98,9 %, une spécificité de 100 % et une corrélation globale de 99,7 % avec la microscopie – IFA (considéré comme la référence).

Résultats combinés – Efficacité clinique comparant la bande *Giardia* du test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* à la microscopie – IFA

| N = 791 | Microscopie (IFA) - résultat positif pour la <i>Giardia</i> | Microscopie (IFA) - résultat négatif pour la <i>Giardia</i> |
|--|---|---|
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> Bande <i>Giardia</i> positive | 181 | 0 |
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> Bande <i>Giardia</i> négative | 2 | 608 |

| | | Indice de confiance de 95% |
|-------------|-------|-------------------------------|
| Sensibilité | 98,9% | 95,7 – 99,8% |
| Spécificité | 100% | 99,2 – 100% |
| Corrélation | 99,7% | 99,7 – 99,7% |

Pour le *Cryptosporidium* spp.

Le tableau suivant présente un résumé de l'efficacité clinique de la partie *Cryptosporidium* du test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™*. Les résultats montrent que le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* a présenté une sensibilité de 100 %, une spécificité de 99,8 % et une corrélation globale de 99,9 % avec la microscopie – IFA (considéré comme la référence).

Résultats combinés – Efficacité clinique comparant la bande *Cryptosporidium* du test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* à la microscopie – IFA

| N = 791 | Microscopie (IFA) - résultat positif pour le <i>Cryptosporidium</i> | Microscopie (IFA) - résultat négatif pour le <i>Cryptosporidium</i> |
|--|---|---|
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> Bande <i>Cryptosporidium</i> positive | 140 | 1 |
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> Bande <i>Cryptosporidium</i> négative | 0 | 650 |

| | | Indice de confiance de 95% |
|-------------|-------|-------------------------------|
| Sensibilité | 100% | 96,7 – 100% |
| Spécificité | 99,8% | 99,0 – 100% |
| Corrélation | 99,9% | 100 – 100% |

Efficacité comparée à deux dispositifs de prédiction (disponibles dans le commerce pour la *Giardia* et le *Cryptosporidium*) – Résultats combinés pour les sites d'étude n° 1 et 2 :

Les résultats combinés de nos évaluations d'efficacité sur les sites d'étude n° 1 et 2 par rapport à deux tests ELISA disponibles dans le commerce (dispositifs de prédiction pour la *Giardia* et le *Cryptosporidium*) ont affiché une concordance de 99,1 % pour les échantillons positifs pour la *Giardia* et de 99,7 % pour les échantillons négatifs pour la *Giardia*, avec une concordance globale de 99,5 %. Le test a affiché une concordance de 99,2 % pour les échantillons positifs pour le *Cryptosporidium*, une concordance de 99,6 % pour les échantillons négatifs pour le *Cryptosporidium* et une concordance globale de 99,5 %.

Bande *Giardia* du test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* contre le test ELISA disponible dans le commerce pour la détection de la *Giardia*

| N = 849 | Test ELISA disponible dans le commerce - Résultat positif pour la <i>Giardia</i> | Test ELISA disponible dans le commerce - Résultat négatif pour la <i>Giardia</i> |
|--|---|---|
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> Bande <i>Giardia</i> positive | 213 | 2 |
| <i>GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™</i> Bande <i>Giardia</i> négative | 2 | 632 |

| | | Indice de confiance de 95% |
|-------------------------------------|-------|-------------------------------|
| Pourcentage de concordance positive | 99,1% | 96,3 – 99,8% |
| Pourcentage de concordance négative | 99,7% | 98,7 – 99,9% |
| Pourcentage de concordance globale | 99,5% | 99,5 – 99,5% |

Bande *Cryptosporidium* du test GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ contre le test ELISA disponible dans le commerce pour la détection du *Cryptosporidium*

| N = 849 | Test ELISA disponible dans le commerce - Résultat positif pour le <i>Cryptosporidium</i> | Test ELISA disponible dans le commerce - Résultat négatif pour le <i>Cryptosporidium</i> |
|---|--|--|
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ Bande <i>Cryptosporidium</i> positive | 130 | 3 |
| GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ Bande <i>Cryptosporidium</i> négative | 1 | 715 |

| | | Indice de confiance de 95% |
|-------------------------------------|-------|----------------------------|
| Pourcentage de concordance positive | 99,2% | 95,2 – 100% |
| Pourcentage de concordance négative | 99,6% | 98,7 – 99,9% |
| Pourcentage de concordance globale | 99,5% | 99,5 – 99,5% |

SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

La sensibilité analytique du dispositif a été déterminée en introduisant des kystes de *Giardia* ou des oocystes de *Cryptosporidium* purifiés, quantifiés par microscopie IFA (Test d'immunofluorescence pour la détection d'anticorps) dans des échantillons négatifs de selles humaines. Les concentrations de kystes de *Giardia* et d'oocystes de *Cryptosporidium* dans la matrice de selles où les échantillons étaient positifs dans 95 % des cas au test GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ ont été utilisées pour décrire la limite de détection du test (LDD). Les résultats des tests ont déterminé que la limite de détection du test était de 6000 kystes/mL de selles pour *Giardia* (équivalent à 133 kystes détectés par test) et de 6000 oocystes/mL de selles pour *Cryptosporidium* (équivalent à 133 oocystes détectés par test). Le test GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™ détectant des antigènes solubles dans les échantillons de selles en plus des kystes et des oocystes, cette étude basée sur les kystes de *Giardia* et les oocystes de *Cryptosporidium* purifiés constitue une estimation de sa sensibilité analytique. Les échantillons cliniques contiennent des quantités variables d'antigène libre par kyste de *Giardia* ou oocyste de *Cryptosporidium*.

REPRODUCTIBILITÉ

Au total, 22 échantillons de selles ont été pré-caractérisés par des dispositifs de prédiction disponibles dans le commerce. Ceux-ci comprenaient 6 échantillons *Giardia*-positifs (3 positifs de moyenne gamme), 6 échantillons *Cryptosporidium*-positifs (3 faiblement positifs), 4 échantillons *Giardia/Cryptosporidium*-positifs (dont 2 étaient faiblement positifs pour la *Giardia* et 2 étaient faiblement positifs pour le *Cryptosporidium*) et 6 échantillons négatifs pour les deux parasites. Tous les échantillons ont été codés pour éviter leur identification pendant le test. Les tests ont été menés sur 3 sites. Les échantillons ont été testés deux fois par jour pendant 5 jours par plusieurs techniciens sur chaque site, à l'aide de 2 lots de kit différents. Un contrôle positif et un contrôle négatif ont été effectués avec chaque panel d'échantillons masqués. Les résultats de chaque laboratoire ont ensuite été transmis à TECHLAB, Inc. et comparés aux résultats internes. Ils étaient cohérents entre les différents sites et ont affiché une corrélation de 100 %. Les échantillons positifs ont systématiquement été testés positifs et les échantillons négatifs se sont systématiquement révélés négatifs sur tous les sites utilisant le test GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™.

RÉACTIVITÉ CROISÉE

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

Aeromonas hydrophila
Bacillus subtilis
Campylobacter coli
Campylobacter jejuni
Clostridium bif fermentans

Bacillus cereus
Bacteroides fragilis
Campylobacter fetus
Candida albicans
Clostridium difficile (strain 630)

Enterococcus faecalis
Escherichia coli O157:H7
Escherichia coli EPEC (enteropathogenic)
Klebsiella pneumoniae
Shigella dysenteriae
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus (Cowan's)
Vibrio parahaemolyticus

Escherichia coli
Escherichia coli ETEC (enterotoxigenic)
Escherichia coli EIEC (enteroinvasive)
Salmonella typhimurium
Shigella flexneri
Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Yersinia enterocolitica

Human Adenovirus 1 and 3
 Human Coxsackievirus B2, B3, and B4
 Human Coronavirus
 Human Echovirus 9
 Enterovirus 68, 69
 Human rotavirus

Adenovirus, Type 2, 5, 40 and 41
 Coxsackievirus B5
 Echovirus 11, 18, 33
 Human parachevovirus 1 (Echovirus 22)
 Human Enterovirus 70, 71

En outre, le test *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™* a été mené sur des échantillons de selles documentés comme positifs pour d'autres parasites par microscopie. Aucune réactivité croisée avec les organismes suivants n'a été observée pour la partie *Giardia* ou *Cryptosporidium* du test. La réactivité croisée avec l'astrovirus et les calicivirus n'a pas été établie.

Ascaris lumbricoides eggs
Chilomastix mesnili
Dientamoeba fragilis
Endolimax nana
Entamoeba hartmanni
 Hookworm eggs
Trichuris trichiura eggs

Blastocystis hominis
Cyclospora cayetanensis
Diphyllobothrium latum eggs
Entamoeba coli
Entamoeba histolytica/E. dispar
Iodamoeba bütschlii

SUBSTANCES INTERFÉRENTES (formules américaines)

Les substances suivantes n'ont pas modifié le résultat positif ou négatif des tests aux concentrations indiquées ci-après : Mucine gastrique de porc (3,5 % p/v), sang humain (40 % v/v), sulfate de baryum (5 % p/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), acide stérique/palmitique (40 % p/v), Métronidazole (0,25 % p/v), Vancomycine (0,25 % p/v).

COMPATIBILITÉ DES ÉCHANTILLONS CONDITIONNÉS

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

PRÉCISION – INTRA-ANALYSE

Pour la détermination de l'efficacité intra-analyse, 6 échantillons de selles positifs (deux positifs pour la *Giardia*, deux positifs pour le *Cryptosporidium*, deux positifs pour la *Giardia* et le *Cryptosporidium*) et six échantillons de selles négatifs ont été analysés. Chaque échantillon a été testé sur 5 cassettes. Tous les échantillons positifs le sont restés, de même que tous les échantillons négatifs sont restés négatifs.

PRÉCISION – INTER-ANALYSE

Pour la détermination de l'efficacité inter-analyse, 16 échantillons de selles positifs (six positifs pour la *Giardia*, six positifs pour le *Cryptosporidium* et quatre positifs pour la *Giardia* et le *Cryptosporidium*) et six échantillons de selles négatifs ont été analysés deux fois par jour pendant quatre jours à l'aide du kit *GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK™*. Tous les échantillons positifs le sont restés, de même que tous les échantillons négatifs sont restés négatifs.

For Informational Use Only

REFERENCES

1. Erlandsen, L. S. and E. A. Meyer (Ed.). 1984. *Giardia* and giardiasis: biology, pathogenesis, and epidemiology. Plenum Press, New York.
2. World Health Organization Scientific Working Group. 1980. Parasite-related diarrhoeas. Bull W.H.O. 58:819-830
3. Petersen, H. 1972. Giardiasis (lambliasis). Scand. J. Gastroenterol. 7 (Suppl 14):1-44.
4. Craun, G. F. 1979. Waterborne outbreaks of giardiasis. In Jakubowski, W., J. Hoff (Ed.), Waterborne transmission of giardiasis. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C., pp. 127-149.
5. Brodsky, R. E., H. C. Spencer, and M. G. Schultz. 1974. Giardiasis in American travelers to the Soviet Union. J. Infect. Dis. 130:319-23.
6. White, K. E., C. W. Hedberg, L. M. Edmons, D. B. W. Jones, M. T. Osterholm, and K. L. MacDonald. 1989. An outbreak of giardiasis in a nursing home with evidence for multiple modes of transmission. J. Infect. Dis. 160:298-304.
7. Pickering, L. K., W. E. Woodward, H. L. DuPont, and P. Sullivan. 1984. Occurrence of *Giardia lamblia* in day care 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.

Technical Support

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

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

© 2021 TECHLAB, Inc. All rights reserved.

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

All other trademarks referenced are trademarks of their respective owners.