

DE ProSpecT™ Giardia Mikrotiterplatten-Assay

REF R245802424 Tests
REF R245809696 Tests

1 ANWENDUNGSBEREICH

Der ProSpecT Giardia-Mikrotiterplatten-Assay verwendet monoklonale Antikörper zum qualitativen Nachweis von *giardia*-spezifischem Antigen (GSA 65) in wässrigen Extrakten von Stuhlproben.

2 ZUSAMMENFASSUNG










Heute ist Giardiose als eine wichtige, humane Darmerkrankung in den meisten Gegenden der Welt bekannt. *Giardia lamblia* ist der protozoische Parasit, der in den Laboren US-amerikanischer Gesundheitsämter am häufigsten in Stuhlproben identifiziert wurde³. Dieser Parasit wird für eine Reihe von Epidemien verantwortlich gemacht^{4,5} und seine Endemizität ist in den USA weitgehend anerkannt. Die Prävalenz unter Erwachsenen wird auf 4 bis 7 %⁸ geschätzt. Höhere Prävalenzraten wurden bei Kindern^{1,15} und homosexuellen Männern^{6,7} gefunden. Zu den akuten Symptomen der Giardiasis gehören Diarrhöe, Malabsorption, Abdominalkrämpfe, Anorexie, Nausea, Gewichtsverlust, Flatulenz, Anämie und allgemeine Schwäche, die über mehrere Wochen bis hin zu mehreren Monaten anhalten können¹⁶. Auch chronische Infektionen, häufig infolge fehlender Behandlung, können mit oder ohne akute Phase auftreten und zu rekurreierenden Symptomen führen. Infektionen mit *Giardia* können zudem asymptomatisch verlaufen².

Das *giardia*-spezifische Antigen (GSA 65) ist ein Makromolekül, das mit *Giardia*-Infektionen in Verbindung gebracht wird und die Grundlage für den Immunoassay bildet^{9,10,11,12}. Bei GSA 65 handelt es sich um ein Glykoprotein mit einer relativen Molekülmasse von 65000. Es wird in reichlicher Menge bei der Vermehrung von *Giardia lamblia* im Darmtrakt des Wirts gebildet. Das Antigen ist nur vorhanden, wenn eine Infektion mit *Giardia* vorliegt. GSA 65 ist auch dann in Stuhlproben noch nachzuweisen, wenn keine Zysten oder Trophozoiten zu sehen sind^{9,10,11}. GSA 65 ist ein *giardia*-spezifisches Antigen, und Anti-GSA-65-Antikörper zeigen keine Kreuzreaktionen mit anderen enterischen Parasiten^{1,10}. GSA 65 ist während der Verweilzeit im Darmtrakt stabil, ebenso gegenüber den meisten Routineverfahren zur Entnahme und zum Transport von Stuhlproben für die mikroskopische parasitologische Untersuchung^{1,11,12,13}.

3 TESTPRINZIP

Beim ProSpecT Giardia-Mikrotiterplatten-Assay handelt es sich um einen Immunoassay fester Phase für den Nachweis von GSA 65¹⁴. Die verdünnten Stuhlproben werden in die abbrechbaren Mikrotiterplatten-Vertiefungen gegeben, an die Anti-GSA-65-Antikörper gebunden sind. Wenn GSA 65 vorhanden ist, wird es vom gebundenen Antikörper „eingefangen“. Die Vertiefungen werden inkubiert und anschließend gewaschen, um das ungebundene Material zu entfernen. Das Enzymkonjugat (monoklonale Anti-GSA-Antikörper, die mit Meerrettich-Peroxidase-Enzym markiert sind) wird hinzugegeben. Die Vertiefungen werden inkubiert und anschließend gewaschen, um ungebundenes Enzymkonjugat zu entfernen. Bei einer positiven Reaktion bindet das GSA 65 das Enzymkonjugat an die Vertiefung. Das Substrat für das Enzym, 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB), wird hinzugegeben. Bei einer positiven Reaktion wandelt das durch GSA 65 an die Vertiefung gebundene Enzym das Substrat in ein farbiges Reaktionsprodukt um. Die Farbentwicklung kann visuell oder mit einem Spektrophotometer ausgewertet werden. Bei einer negativen Reaktion ist kein oder nicht genügend GSA 65 vorhanden, um das Enzymkonjugat zu binden, und es wird kein farbiges Reaktionsprodukt entwickelt.

4 SYMBOLDEFINITIONEN

	Katalognummer
	In-vitro-Diagnostikum
	Inhalt ausreichend für <n> Tests
	Gebrauchsanweisung beachten
	Temperaturbeschränkung (Lagertemp.)
	Chargennummer (Losnummer)
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
	Hersteller
	Verdünnte Probe

5 INHALT DES KITS, VORBEREITUNG DER REAGENZEN UND LAGERUNG

Der ProSpecT Giardia-Mikrotiterplatten-Assay enthält genügend Reagenzien für die Durchführung von Σ 24 oder Σ 96 Tests. Siehe auch die **Vorsichtsmaßnahmen** in Abschnitt 6.

Das Verfallsdatum des Kits ist auf dem Verpackungsetikett vermerkt.

Alle Komponenten bei 2 - 8 °C lagern.

Vor dem Gebrauch alle Reagenzien auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen und vorsichtig mischen. Unverbrauchte Reagenzien im Kühlschrank aufbewahren.

Mit Ausnahme des Waschpuffers werden die Reagenzien in der erforderlichen Konzentration geliefert. Die Reagenzien können direkt von den Tropfflaschen getropft oder zwecks Verwendung mit einer Mehrkanalpipette pipettiert werden. Zuviel ausgeschüttetes Reagenz muss entsorgt werden. Zuviel ausgeschüttetes Reagenz nicht wieder in die Flasche füllen.



**Gebrauchsanweisung
Vollpipetten
Teststreifenhalterung und Abdeckung
Kurzanleitung**

MICROTITRATION PLATE

Mikrotiterplatte* (8 Vertiefungen/ Streifen)
3 Streifen (R2458024) oder 12 Streifen (R2458096) beschichtet mit Anti-GSA-65-Antikörpern (Kaninchen). Unverbrauchte Teststreifen im Beutel mit Trockenmittel lagern, um sie vor Feuchtigkeit zu schützen.

CONJUGATE

Enzymkonjugat*
Eine Tropfflasche mit 5 ml (R2458024) bzw. 25 ml (R2458096) meerrettich-peroxidase-markiertesmonoklonales Anti-GSA mit Rinderserum und antimikrobiellen Mitteln

CONTROL +

Positivkontrolle
Eine Tropfflasche mit 4 ml gepufferter Lösung mit deaktiviertem Giardia-Antigen und antimikrobiellen Mitteln

CONTROL -

Negativkontrolle
Eine Tropfflasche mit 4 ml gepufferter Lösung mit rotem Farbstoff und antimikrobiellen Mitteln

SAMPLE DILUENT

Probenverdünnungspuffer
Eine Flasche mit 35 ml (R2458024) bzw. 120 ml (R2458096) einer Pufferlösung mit Kaninchenserum, rotem Farbstoff und antimikrobiellen Mitteln

WASH BUFFER (x10)

Waschpuffer
Eine Flasche mit 50 ml (R2458024) bzw. 120 ml (R2458096) einer 10 fach konzentrierten Pufferlösung mit antimikrobiellen Mitteln.

Das 10fach-Waschpufferkonzentrat durch die Zugabe von 1 Teil Konzentrat auf 9 Teile destilliertes oder deionisiertes Wasser auf einfache Stärke verdünnen. Der verdünnte Waschpuffer ist bei Lagerung bei 2 - 8 °C einen Monat lang stabil.

SUBSTRATE TMB

Farbsubstrat
Eine Tropfflasche mit 12 ml (R2458024) bzw. 25 ml (R2458096) 3,3',5,5'-Tetramethyl-benzidin (TMB) in Puffer.

Das Farbsubstrat sollte in der lichtgeschützten Flasche, in der es geliefert wird, aufbewahrt und daraus ausgegeben werden. Wenn aus einem beliebigen Grund ein Aliquot aus der Flasche entnommen wird, das unbenutzte Farbsubstrat nicht wieder in die ursprüngliche Flasche füllen.

STOP SOLUTION

Stopplösung
Eine Tropfflasche mit 12 ml Schwefelsäure (0,46 mol/l)

***Hinweis:** Die Reagenzien von Kits verschiedener Chargennummern dürfen nicht vertauscht werden.

6 VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD

Reagenzien nur für den *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.

Nur für die professionelle Verwendung.

Informationen zu potenziell gefährlichen Komponenten dem Sicherheitsdatenblatt oder der Produktkennzeichnung entnehmen.

GESUNDHEITS- UND SICHERHEITSINFORMATIONEN

- 6.1 Die Reagenzien werden aus Biomaterial hergestellt und müssen als potenziell infektiös gehandhabt werden. Die Entsorgung muss unter Einhaltung entsprechender Verfahren für infektiöses Material („Biohazard“) durchgeführt werden.
- 6.2 Nicht mit dem Mund pipettieren. Bei der Handhabung von Proben und der Durchführung des Tests Einweghandschuhe und Schutzbrille tragen. Danach die Hände gründlich waschen.
- 6.3 Die Proben können potenziell infektiöse Mittel enthalten und müssen unter Einhaltung der Sicherheitsstufe 2 („Biosafety Level 2“) entsprechend des CDC/NIH-Handbuchs „Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories“, 5. Ausgabe, gehandhabt werden.
- 6.4 Der Waschpuffer enthält Hautreizstoffe (< 1 % v/v). Hautkontakt vermeiden. Einweg-Schutzhandschuhe aus Vinyl oder Nitril tragen.
- 6.5 Den benutzten Waschpuffer in entsprechenden Behältern für infektiöses Material („Biohazard“) entsorgen.

ANALYTISCHE VORSICHTSMASSNAHMEN

- 6.6 Alle in dieser Gebrauchsanweisung enthaltenen Anweisungen sorgfältig durchlesen und befolgen.
- 6.7 Mit Ausnahme des Waschpufferkonzentrats werden alle Reagenzien in Arbeitskonzentration geliefert. Reagenzien nur verdünnen, wenn ausdrücklich angewiesen.
- 6.8 Nicht nach dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum verwenden. Die Verwendung von Reagenzien nach dem Verfallsdatum kann die Genauigkeit der Ergebnisse beeinträchtigen.
- 6.9 Die folgenden allgemeinen Reagenzien können in der ProSpecT-Serie produktübergreifend verwendet werden: Waschpuffer, Farbsubstrat und Stopplösung.
- 6.10 Durch eine mikrobielle Kontaminierung der Reagenzien kann die Testgenauigkeit vermindert werden. Beim Entnehmen von aliquoten Teilen aus den Reagenzflaschen sterile Einwegpipetten verwenden, um eine mikrobielle Kontaminierung der Reagenzien zu vermeiden.

- 6.11 Vor der Verwendung alle Reagenzien auf Zimmertemperatur (20 - 25 °C) bringen.
- 6.12 Teststreifen im verschließbaren Beutel mit Trockenmittel lagern, um die Vertiefungen vor Feuchtigkeit zu schützen.
- 6.13 Die Stuhlproben müssen vor der Verarbeitung der Probe gründlich gemischt werden, um eine genaue Darstellung der Probe sicherzustellen. DIE PROBEN VOR DEM TEST NICHT KONZENTRIEREN.
- 6.14 Das Farbsubstrat ist lichtempfindlich. Wenn das Reagenz Licht ausgesetzt wird und Farbe entwickelt, muss es entsorgt werden.
- 6.15 Bediener, die an Farbenblindheit oder anderen Sehschwächen leiden, können das Testergebnis nicht visuell ablesen und müssen die Messergebnisse mithilfe des Spektrophotometers auswerten.
- 6.16 Reagenzien während des gesamten Verfahrens in der gleichen Reihenfolge in die Vertiefungen pipettieren. Die Flüssigkeit in den Vertiefungen nicht mit den Tropföffnungen berühren, um Kontaminierung zu vermeiden.
- 6.17 Die Inkubationszeit genau einhalten. Nach dem Hinzufügen des Reagens in die letzte Vertiefung auf jeder zu testenden Mikrotiterplatte die Zeitmessung starten. Nie mehr als drei Platten mit jeweils 96 Vertiefungen gleichzeitig bearbeiten, um die genaue Zeitmessung sicherzustellen. Abweichungen von diesem Testverfahren können die Testergebnisse beeinträchtigen.
- 6.18 Es ist wichtig, dass die Tropfflasche senkrecht gehalten wird und der Tropfen sich an der Spitze bildet. Falls die Spitze nass wird, bildet sich ein Tropfen mit dem falschen Volumen um das Ende herum und nicht an der Spitze. In diesem Fall die Spitze vor dem Fortfahren trocknen.

7 GEWINNUNG VON STUHLPROBEN

Für den ProSpecT Giardia-Mikrotiterplatten-Assay können Proben verwendet werden, die für parasitologische Routineuntersuchungen gewonnen wurden. Die Stuhlproben sind in sauberen, leckgeprüften Kunststoffbehältern zu sammeln.

FRISCH Unbehandelte Stuhlproben sind bei 2 - 8 °C aufzubewahren und müssen innerhalb von 48 Stunden getestet werden.

GEFROREN Wenn die frischen Stuhlproben nicht innerhalb von 48 Stunden getestet werden können, diese bei -20 bis -70 °C einfrieren.

KONSERVIERT Mit 10 % Formalin MF- oder SAF-Fixiermitteln behandelte Stuhlproben können gekühlt (2 - 8 °C) oder bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) gelagert werden und müssen innerhalb von 2 Monaten nach der Entnahme getestet werden.

CARY BLAIR In Cary Blair-Transportmedium (oder einem vergleichbaren Medium) gesammelte Proben müssen gekühlt oder eingefroren aufbewahrt und innerhalb von einer Woche getestet werden. Stuhlproben, die konzentriert oder mit PVA-Fixiermitteln behandelt wurden, sind für die Verwendung nicht geeignet.

ABSTRICH/WINDEL Stuhlproben aus rektalen Abstrichen oder Windeln können für den ProSpecT Giardia-Mikrotiterplatten-Assay verwendet werden. Die Verwendung von extrem absorbierenden Windeln ist jedoch nicht möglich.

8 TESTVERFAHREN

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

Siehe **Inhalt** in Abschnitt 5.

ERFORDERLICHES, JEDOCH NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIAL

Behälter für die Entnahme von Stuhlproben
Stoppuhr zum Messen von Minuten
Waschflasche für Waschpuffer
Destilliertes oder deionisiertes Wasser

OPTIONALE MATERIALIEN (NICHT MITGELIEFERT)

Lesegerät für Mikrotiterplatten, das 450 nm oder 450/620 bis 650 nm messen kann
Abstrichtupfer mit Baumwoll- oder Rayonspitze
Mikropipette für Volumen bis 200 µl
Einwegröhrchen aus Kunststoff oder Glas
Vortexmischer mit Plattenadapter oder Plattenschüttler

TESTVERFAHREN

- 8.1 Den Beutel öffnen, die erforderliche Anzahl von Teststreifen entnehmen und in einen Teststreifenhalter geben. Eine Vertiefung für die Negativkontrolle und eine weitere für die Positivkontrolle verwenden. Wenn weniger als 8 Vertiefungen benötigt werden, die erforderliche Anzahl abbrechen und die nicht benötigten Vertiefungen wieder in den Beutel mit Trockenmittel geben. DEN BEUTEL WIEDER FEST VERSCHLIESSEN, UM DEN INHALT VOR FEUCHTIGKEIT ZU SCHÜTZEN UND IM KÜHLSCHRANK AUFBEWAHREN.
- 8.2 Die Stuhlproben können direkt in die Vertiefungen gegeben oder vor der Zugabe in die Vertiefungen in Röhrchen verdünnt werden. Zuvor verdünnte Stuhlproben können bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) bis zu 8 Stunden oder bei 2 - 8 °C bis zu 48 Stunden bis zum Test gelagert werden (siehe unten). Eine der zwei folgenden Methoden auswählen: Siehe Tabelle „**A**“ für Verdünnung in Vertiefungen und Tabelle „**B**“ für Verdünnung in Röhrchen.

A Verdünnung in Vertiefungen

- Unkonservierte, feste Stuhlproben:** Jeweils ein Röhrchen pro Stuhlprobe beschriften. Zu jedem Röhrchen **0,4 ml** Probenverdünnungspuffer hinzugeben. **1 Abstrichtupfer** mit Stuhlprobe benetzen und gründlich mit Probenverdünnungspuffer vermischen. So viel Flüssigkeit wie möglich herauspressen und den Abstrichtupfer entsorgen. Vollpipette in Röhrchen platzieren.
- Konservierte oder wässrige, unkonservierte Stuhlproben:** Die Proben durch Schütteln der Probenbehälter mischen. Keine weitere Vorbereitung erforderlich.
- 4 Tropfen** Negativkontrolle in Vertiefung A1 geben. **4 Tropfen** Positivkontrolle in Vertiefung B1 geben.
- 100 µl** Probenverdünnungspuffer in jede Probenvertiefung geben.
- Mithilfe von Vollpipetten **1 Tropfen** jeder Stuhlprobe in eine Vertiefung geben. Hinweis:

Die Öffnung der Pipetten etwas in die Vertiefungen halten, um Spritzer in die angrenzenden Vertiefungen zu vermeiden

6 WEITER MIT SCHRITT 8.3

B Verdünnung in Röhrchen

1 Unkonservierte, feste Stuhlproben: Jeweils ein Röhrchen pro Stuhlprobe beschriften. Zu jedem Röhrchen **1 ml** Probenverdünnungspuffer hinzugeben. **1 Abstrichtupfer** mit Stuhlprobe benetzen und gründlich in Probenverdünnungspuffer rühren. So viel Flüssigkeit wie möglich herauspressen und den Abstrichtupfer entsorgen. Eine Vollpipette in jedem Röhrchen platzieren.

2 Konservierte oder wässrige, unkonservierte Stuhlproben: Jeweils ein Röhrchen pro Stuhlprobe beschriften. **1 ml** Probenverdünnungspuffer in jedes Röhrchen geben. Die Proben durch Schütteln der Probenbehälter mischen. Mithilfe von Vollpipetten **0,3 ml** (dritte Markierung von der Spitze der Pipette) aufziehen. Probe in Probenverdünnungspuffer geben. Durch einmaliges Hoch- und Herunterziehen mischen. Vollpipette in Röhrchen belassen.

Verdünnte Stuhlproben sind bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) bis zu 8 Stunden oder bei 2 - 8 °C bis zu 48 Stunden lang haltbar.

3 4 Tropfen Negativkontrolle in Vertiefung A1 geben.

4 4 Tropfen Positivkontrolle in Vertiefung B1 geben.

Mithilfe von Vollpipetten **0,2 ml** (zweite Markierung von der Spitze der Pipette) jeder Stuhlprobe in eine Vertiefung geben. Hinweis: Die Öffnung der Pipetten etwas in die Vertiefungen halten, um Spritzer in die angrenzenden Vertiefungen zu vermeiden

6 WEITER MIT SCHRITT 8.3

- 8.3 Die Mikrotiterplatte **abdecken** und bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) **60 Minuten** lang inkubieren. Mit der Zeitmessung nach dem Hinzufügen der letzten Stuhlprobe beginnen.
- 8.4 Den Inhalt durch Schütteln oder Absaugen aus den Vertiefungen entfernen. Alle Vertiefungen mit **verdünntem** Waschpuffer (~350 - 400 µl pro Vertiefung) gründlich waschen. Nach jedem Waschen alle Flüssigkeiten aus den Vertiefungen ausschütten oder absaugen. Insgesamt **3 Mal** waschen. Den Inhalt der Platte nach dem letzten Waschvorgang durch Ausklopfen auf sauberem Papier oder Absaugen entfernen. So viel Waschpuffer wie möglich entfernen. Die Vertiefungen dürfen jedoch niemals vollkommen trocken sein.
- 8.5 Jeweils **4 Tropfen** (200 µl) Enzymkonjugat in die Vertiefungen geben.
- 8.6 Die Mikrotiterplatte **abdecken** und bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) **30 Minuten** lang inkubieren.
- 8.7 Jede Vertiefung **5 Mal** ausschütten und waschen (siehe Schritt 8.4).
- 8.8 Jeweils **4 Tropfen** (200 µl) Farbsubstrat in die Vertiefungen geben.
- 8.9 Die Mikrotiterplatte **abdecken** und bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) **10 Minuten** lang inkubieren.

- 8.10 Jeweils **1 Tropfen** (50 µl) Stopplösung in die Vertiefungen geben. Vorsichtig auf die Vertiefungen klopfen oder diese in einem Vortexmischer mischen, bis ein gleichmäßig gelber Farbton entsteht. Die Reaktionen innerhalb von **10 Minuten** nach Zugabe der Stopplösung auswerten.
- 8.11 Reaktionen visuell oder bei 450 nm (eine Wellenlänge) oder 450/620 bis 650 nm (zwei Wellenlängen) spektrophotometrisch auswerten.

9 QUALITÄTSKONTROLLE

Positiv- und Negativkontrollen müssen bei jeder Testdurchführung hinzugegeben werden. Sie dienen sowohl als Reagenzien als auch als Verfahrenskontrollen. Die Kontrollen sollen die Reagenzien auf erhebliche Fehler hin überwachen. Die Positivkontrolle ist nicht in der Lage, die Präzision am Cut-off-Wert zu gewährleisten.

Die optische Dichte (O.D.) der Negativkontrolle muss bei 450 nm $\leq 0,100$ betragen oder bei 450/620 bis 650 nm $< 0,070$. Die Negativkontrolle muss bei der visuellen Auswertung farblos sein. Wenn in der Negativkontrolle eine gelbe Färbung vorliegt, die 1+ oder höher auf der Kurzanleitung entspricht, muss der Test unter genauer Einhaltung des Waschverfahrens wiederholt werden.

Die optische Dichte der Positivkontrolle muss $\geq 0,300$ bei 450 nm oder 450/620 bis 650 nm betragen, nachdem die optische Dichte der Negativkontrolle subtrahiert wurde, und muss bei der visuellen Auswertung größer oder gleich der 2+ Reaktion sein. Wenn die gelbe Färbung in der Positivkontrolle geringer als 2+ der Kurzanleitung ist, technische Unterstützung hinzuziehen.

10 ERGEBNISSE

Für die Farbauswertung die beiliegende Kurzanleitung einsehen.

VISUELL

- 10.1 Die Testergebnisse durch Vergleichen mit den Reaktionsfarben der Kurzanleitung ablesen.
Positiv: gelbe Färbung mit einer Intensität von mindestens 1+
Negativ: farblos
- 10.2 Auswertung der visuellen Ergebnisse:
Positiv: Wenn sich in der Testvertiefung eine gelbe Färbung mit einer Intensität von mindestens 1+ entwickelt, enthält die Probe GSA 65 und der Test ist positiv.
Hinweis: Tests mit blässgelber Färbung (weniger als 1+) müssen wiederholt werden.
Negativ: Eine farblose Reaktion ist ein negatives Ergebnis und bedeutet, dass kein oder eine nicht messbare Konzentration an GSA 65 in der getesteten Probe vorhanden ist.

Spektrophotometrisch

- 10.3 Das Ergebnis entweder bei einer Wellenlänge (450 nm) oder bei zwei Wellenlängen (450/620 bis 650 nm) ablesen.
- 10.4 Die optische Dichte für die Negativkontrolle ablesen.
- 10.5 Die optische Dichte der Negativkontroll-Vertiefung von den optischen Dichten der Vertiefung der Positivkontrolle und den Testvertiefungen subtrahieren, bevor die Ergebnisse ausgewertet werden.

Hinweis: Das Lesegerät kann so eingestellt werden, dass für die Vertiefung der Negativkontrolle ein Leerwert bestimmt wird. Dadurch wird die optische Dichte der Negativkontroll-Vertiefung automatisch von allen anderen Messwerten subtrahiert. Wenn das Lesegerät nicht über diese Funktion verfügt, den Leerwert gegen Luft bestimmen und die optische Dichte der Negativkontroll-Vertiefung von den optischen Dichten der Vertiefung der Positivkontrolle und den Testvertiefungen subtrahieren, bevor die Ergebnisse ausgewertet werden.

10.6 Ablesen der Testergebnisse:

Positiv: Optische Dichte $\geq 0,050$ gegen Leerwert (d. h. nachdem die optische Dichte der Negativkontrolle subtrahiert wurde)

Negativ: Optische Dichte $< 0,050$ gegen Leerwert (d. h. nachdem die optische Dichte der Negativkontrolle subtrahiert wurde)

10.7 Auswertung der spektrophotometrischen Ergebnisse:

Positiv: Wenn die gegen den Leerwert bestimmte optische Dichte in der Testvertiefung größer oder gleich 0,050 ist, enthält die Probe GSA 65 und der Test ist positiv.

Negativ: Eine gegen den Leerwert bestimmte optische Dichte von unter 0,050 ist ein negatives Ergebnis und bedeutet, dass kein oder eine nicht messbare Konzentration an GSA 65 in der getesteten Probe vorhanden ist.

***Hinweis:** Alle Vertiefungen, die visuell klar aussehen, aber eine optische Dichte ergeben, die mit der visuellen Auswertung nicht übereinstimmt, sind als abweichende Werte zu betrachten. Die Vertiefung sollte auf Blasen, kleine Partikel oder einen undurchsichtigen Film auf dem Boden der Vertiefung untersucht werden. Zum Entfernen des Films die Unterseite der Vertiefungen abwischen und die optische Dichte erneut ablesen. Wenn die Diskrepanz zwischen visuellen und spektrophotometrischen Werten fortbesteht, den Test wiederholen.

11 GRENZEN DER METHODE

Die Gültigkeit der Ergebnisse, die mit dem ProSpecT Giardia-Mikrotiterplatten-Assay erhalten werden, hängt vom Verlauf der Kontrollreaktionen ab. Siehe **Qualitätskontrolle** in Abschnitt 9.

Ein negatives Testergebnis schließt die Möglichkeit des Vorhandenseins von *Giardia* nicht aus; dieser Fall kann eintreten, wenn die Antigenkonzentration in der Probe unterhalb des messbaren Bereichs des Tests liegt. Eine Korrelation zwischen der Antigenmenge in einer Probe und der klinischen Darstellung konnte nicht nachgewiesen werden.

Wie bei allen diagnostischen In-vitro-Tests sind die Ergebnisse zusammen mit den klinischen Befunden und/oder anderen Labortests zu interpretieren.

Die korrekte Gewinnung und Verarbeitung der Stuhlproben sind für die optimale Testdurchführung von größter Bedeutung. Optimale Testergebnisse werden für Stuhlproben erhalten, die möglichst bald nach der Entnahme getestet werden. Siehe **Gewinnung von Stuhlproben** in Abschnitt 7.

Der ProSpecT Giardia-Mikrotiterplatten-Assay wurde als High-Complexity-Test klassifiziert.

12 ERWARTETE WERTE

Die Prävalenz von *Giardia*-Infektionen ist von der jeweiligen Population und der geographischen Region abhängig. In den USA beträgt die Inzidenz für *Giardia* ungefähr 4 bis 7 %, wobei die Prävalenzraten für Kinder¹² und homosexuelle Männer^{5,6} höher sind.

13 LEISTUNGSDATEN

SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Die Leistungsfähigkeit des ProSpecT Giardia-Mikrotiterplatten-Assays wurde in klinischen Studien untersucht. Die Stuhlproben stammten von einem großen Referenzlabor, das parasitologische Untersuchungen (O&P, Ova/Parasiten) durchführte. Insgesamt wurden 248 unkonservierte Stuhlproben getestet. 101 waren bei der parasitologischen Untersuchung *Giardia*-positiv und 147 waren negativ. In siebenundvierzig der *giardia*-negativen Stuhlproben wurden bei der parasitologischen Untersuchung andere Parasiten als *Giardia* festgestellt. Alle parasitologisch positiven Stuhlproben waren im Mikrotiterplatten-Assay positiv, und alle negativen Stuhlproben waren negativ. Die in dieser Studie ermittelten Leistungsdaten des ProSpecT Giardia-Mikrotiterplatten-Assays sind im Folgenden dargestellt:

		O&P		
		+	-	
ProSpecT	+	101	0	
Giardia	-	0	147	
		101	147	248

Sensitivität $101/101 = 100\%$ (96 - 100 %)

Spezifität $147/147 = 100\%$ (98 - 100 %)

Die Zahlen in Klammern sind 95 %ige Konfidenzintervalle.

Es wurde eine Prospektivstudie durchgeführt, bei der 562 Stuhlproben parasitologisch (O&P) untersucht wurden. Die Stuhlproben stammten von einem großen Referenzlabor eines Großstadt-Krankenhauses (360 unkonservierte Stuhlproben) und von einem Labor eines Gesundheitsamtes (202 in Formalin konservierte Stuhlproben). Es gab ein O&P-positives/EIA-negatives Ergebnis, und 10 Stuhlproben waren O&P-negativ/EIA-positiv. Eine davon war durch spezifische Inhibition GSA-65-positiv. Die in dieser Studie ermittelten Leistungsdaten des ProSpecT Giardia-Mikrotiterplatten-Assays sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

		O&P/Spezifische Inhibition		
		+	-	
ProSpecT	+	42	9	
Giardia	-	1	510	
		43	519	562

Sensitivität $42/43 = 98\%$ (88 - 100 %)

Spezifität $510/519 = 98\%$ (97 - 99 %)

Die Zahlen in Klammern sind 95 %ige Konfidenzintervalle.

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Mit dem ProSpecT Giardia-Mikrotiterplatten-Assay können ungefähr 3,9 ng/ml GSA 65 nachgewiesen werden.

REPRODUZIERBARKEIT

Der Inter-Assay-Variationskoeffizient (VK, Lauf zu Lauf) wurde anhand von 5 positiven und 5 negativen Proben ermittelt, die mindestens 10 Mal in drei separaten Läufen getestet wurden. Für die Verdünnung im Röhrchenverfahren betrug der mittlere VK der negativen Proben 3,02 % (Bereich 0,93 % bis 3,90 %), und der mittlere VK für die positiven Proben betrug 4,65 % (Bereich 1,74 % bis 10,72 %). Für die Verdünnung in Vertiefungen betrug der mittlere VK der negativen Proben 7,66 % (Bereich 4,22 % bis 16,19 %), und der mittlere VK für die positiven Proben betrug 7,76 % (Bereich 4,12 % bis 11,26 %).

Der Intra-Assay-Variationskoeffizient (innerhalb eines Laufs) wurde anhand von 5 positiven und 5 negativen Proben ermittelt, die mindestens 10 Mal in einem einzelnen Lauf getestet wurden. Für die Verdünnung im Röhrchenverfahren betrug der mittlere VK der negativen Proben 4,47 % (Bereich 3,30 % bis 5,39 %), und der mittlere VK für die positiven Proben betrug 5,61 % (Bereich 2,53 % bis 10,12 %). Für die Verdünnung in Vertiefungen betrug der mittlere VK der negativen Proben 4,51 % (Bereich 2,73 % bis 5,36 %), und der mittlere VK für die positiven Proben betrug 9,58 % (Bereich 4,78 % bis 13,8 %).

KREUZREAKTIVITÄT

Der ProSpecT Giardia-Mikrotiterplatten-Assay wurde mit Stuhlproben getestet, die für eine Reihe fäkaler Organismen als positiv bewertet wurden. Mit keiner der unten aufgelisteten infektiösen Agenzien konnten Kreuzreaktionen beobachtet werden.

<i>Ascaris lumbricoides</i> (5)	<i>Entamoeba histolytica</i> (5)
<i>Blastocystis hominis</i> (6)	<i>Hymenolepis nana</i> (2)
<i>Cryptosporidium parvum</i> (10)	<i>Iodamoeba butschlii</i> (9)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (10)	<i>Isospora belli</i> (5)
<i>Endolimax nana</i> (6)	Rotavirus (11)
<i>Entamoeba coli</i> (13)	<i>Strongyloides stercoralis</i> (1)
<i>Entamoeba hartmanni</i> (5)	<i>Trichuris trichiuria</i> (2)

Die Zahlen in Klammern zeigen die Anzahl der getesteten Proben an.

14 LITERATUR

- Addiss, D.G., 1991.**
Evaluation of a commercially available Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay for *Giardia lamblia* antigen in stool. J. Clin. Microbiol. 29(6):1137-1142.
- Black, R.E. et al., 1977.**
Giardiasis in day care centres: evidence of person to person transmission. Pediatrics 60:486-491.
- Centre for Disease Control, Atlanta, GA, 1978.**
Intestinal parasite surveillance-United States 1976. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 27(20):167-168.
- Craun, G.F., 1979.**
Waterborne Giardiasis in the United States: A Review. Am. J. Publ. Health 69(8):817-819.
- Craun, G.F., 1986.**
Waterborne Giardiasis in the United States 1965-84. Lancet i:513-514.
- Kean, B.H. et al., 1979.**
Epidemic of amoebiasis and giardiasis in a biased population. Brit. J. Ven. Dis. 55:375-378.
- Meyers, J.D. et al., 1977.**
Giardia lamblia infection in homosexual men. Brit. J. Ven. Dis. 53:54-55.

- Rendtorff, R.C., 1979.**
The experimental transmission of *Giardia lamblia* among volunteer subjects in waterborne transmission of Giardiasis (Hg. Jakubowski, W. und Hoff, J.C.), S. 64-81. EPA, U.S., Cincinnati, OH.
- Rosoff, J.D., and H.H. Stibbs, 1986.**
Isolation and Identification of a *Giardia lamblia*-Specific Stool Antigen (GSA 65) useful in the coprodiagnosis of Giardiasis. J. Clin. Microbiol. 23(5):905-910.
- Rosoff, J.D. und H.H. Stibbs, 1986.**
Physical and chemical characterization of a *Giardia lamblia*-Specific Antigen Useful in the coprodiagnosis of Giardiasis. J. Clin. Microbiol. 24(6):1079-1083.
- Meyers, J.D. et al., 1989.**
Stool Diagnosis of Giardiasis using a commercially available Enzyme Immunoassay to Detect *Giardia*-Specific Antigen 65 (GSA 65). J. Clin. Microbiol. 27(9):1997-2002.
- Schieven, B.C. und Z. Hussain, 1990.**
Evaluation of an enzyme immunoassay test kit for diagnosing infections with *Giardia lamblia*. Serodiag and Immunother 4:109-113.
- Sonnad, S., L. Bahrami, P. O'Hanley, 1991.**
Compatibility Assessment of Three Common Transport Media Systems with the ProSpecT™ / *Giardia* Immunoassay. Presented at the 1991 American Society for Microbiology Meeting, Session 20.
- Tijssen, P.**
Practice and Theory of Enzyme Immunoassays. Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, R.H. Burdon and P.H. Hg. van Knippenberg, Elsevier, N.Y., 1985, S. 14-16.
- Visvesvara, G.S., 1982.**
Giardiasis in Children. J. Pediatr. Gastroentrol Nutr. 1(4):463-465.
- Wolfe, M.S., 1979.**
Managing the patient with giardiasis: clinical, diagnostic and therapeutic aspects. In: Waterborne Transmission of Giardiasis. (Jakubowski, W. und Hoff, J.C. Hg.) Seiten 39-52. EPA, U.S., Cincinnati, OH.

ProSpecT™ ist ein eingetragenes Warenzeichen.



Oxoid Ltd Wade Road Basingstoke Hants, RG24 8PW UK

Für technische Unterstützung wenden Sie sich bitte an Ihren Händler.

X7588A überarbeitet März 2012