



CERTEST CRYPTO-GIARDIA CARD
One Step *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* Card test

INTENDED USE

The CerTest *Crypto-Giardia* Card is a one step coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* in stool samples.

INTRODUCTION

Giardia and *Cryptosporidium* are parasites that can be found in water. *Giardia* causes an intestinal illness called giardiasis. *Cryptosporidium* is responsible for a similar illness called cryptosporidiosis. These infections have become the most common causes of waterborne diseases (found in both drinking and recreational water) in humans.

Giardiasis is a diarrheal illness caused by a very small parasite, *Giardia intestinalis* (also known as *Giardia lamblia*). Once an animal or person is infected with *Giardia*, the parasite lives in the intestine and is passed in the stool. The parasite is protected by an outer shell and can survive outside the body and in the environment for a long time. The most common symptoms of giardiasis include: diarrhea, loose or watery stool, stomach cramps and upset stomach.

Cryptosporidium parvum is the major cause of persistent diarrhoea in developing countries. This parasite is recognised as a highly infectious enteric pathogen and infective stage is transmitted by the fecal-oral route. Symptoms of cryptosporidiosis include watery diarrhoea, stomach cramps, weight loss, nausea and sometimes fever.

PRINCIPLE OF THE TEST

CerTest *Crypto-Giardia* Card uses a new one-step immunochromatographic system with coloured latex particles. It is a simple-to-use test which only needs the dilution of the fecal sample with the supplied ready-to-use dilution buffer.

Specificity is ensured by using mouse monoclonal antibodies directed against specific membrane antigens of *Giardia lamblia*. These reagents are used conjugated with coloured latex particles and coated on a nitrocellulose membrane. Liquid sample and coloured latex particles conjugate both migrate by capillary action. Upon reaching the first specific anti-*Giardia* monoclonal reagent, any *Giardia* present in the sample will be blocked and an immunoreaction will appear as a blue coloured line (first result line). The sample continues to migrate up the test, on reaching the second specific anti-Crypto monoclonal reagent, any *Cryptosporidium* present in the sample will be blocked and another immunoreaction will appear as a red coloured line (second result line). The sample continues to migrate up the test, on reaching the third reagent, a green coloured line (control line) is formed. This green line indicates that the sample has migrated correctly and that the chromatography has developed without hindrance. The control line appears with positive and negative samples. If this line does not develop, the test is invalid. The presence of this green band serves as verification that sufficient volume is added, that proper flow is obtained and as an internal control for the reagents.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

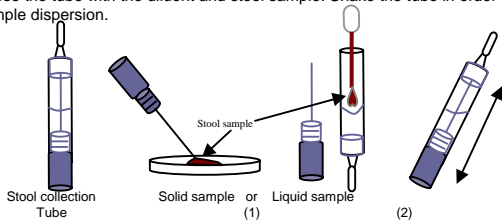
- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Stool samples should be collected in clean containers and the assay should be done right after collection. The samples can be stored in the refrigerator (2-4 °C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample will be totally thawed, and brought to room temperature before testing.

Specimen preparation (see illustration):

- (1) Unscrew the tap and use the stick to pick up a little sample, if the stool sample was liquid take 100 µL using a pipette, and add the sample into the stool collection tube.
- (2) Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion.



MATERIALS PROVIDED

- Device tests
- Instructions for use
- Stool collection tubes with sample diluent

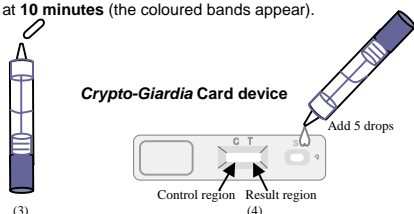
MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

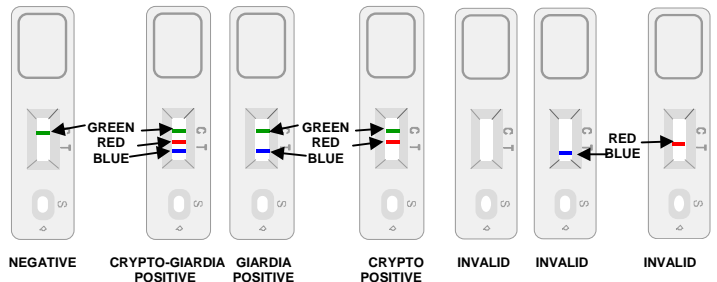
TEST PROCEDURE

Allow the tests, stool samples and controls to reach to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until ready to perform the assay.

1. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion. Cut the end of the top (3).
2. Remove the CerTest *Crypto-Giardia* Card device from its sealed bag just before using.
3. Use a separate stool collection tube and device for each sample or control. Dispense exactly 5 drops or 150 µL into the circular window marked with an arrow, avoiding to add solid particles with the liquid (4).
- 4.- Read the result at **10 minutes** (the coloured bands appear).



INTERPRETATION OF RESULTS (please refer to the illustration below)



NEGATIVE: only one GREEN band appears across the central window in the site marked with the letter C (control line).

CRYPTO POSITIVE: in addition to the GREEN control band, a RED band (Crypto test line) also appears in the site marked with the letter T (results lines).

GIARDIA POSITIVE: in addition to the GREEN control band, a BLUE band (Giardia test line) also appears in the site marked with the letter T (results lines).

CRYPTO-GIARDIA POSITIVE: All the lines above described (a GREEN control band in the control region, a RED band and a BLUE band in the result region) could appear at the same time during the test performance due to a simultaneous infection of Crypto and Giardia.

INVALID: A total absence of the control coloured band (GREEN) regardless the appearance or not of the results lines (RED/BLUE). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact you local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red/blue coloured band in the result line region (T) will vary depending on the concentration of antigen present in the specimen. However, neither the quantitative value, nor the rate of increase in antigen can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural controls are included in the test. A green line appearing in the control region (C) is the internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.
2. An excess of stool sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the buffer and repeat the test.
3. After one week of infection, the number of parasites in feces is decreasing, making the sample less reactive. Stool samples should be collected within one week of the onset of symptoms.
4. This test provides a presumptive diagnosis for Cryptosporidiosis and/or Giardiasis. A confirmed infection diagnosis should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.

EXPECTED VALUES

Negative results are expected in healthy patients. This test is intended to be used for the diagnosis of Cryptosporidiosis and Giardiasis.

PERFORMANCE

Sensitivity

The evaluation was conducted comparing the results obtained using the CerTest *Crypto-Giardia* Test to another commercial available ELISA *Crypto* and *Giardia* assays. The detection of *C. parvum* showed 95% of concordance in sensitivity. The detection of *G. lamblia* showed 95% of concordance in sensitivity.

Specificity

The use of mouse monoclonal antibodies in the elaboration of CerTest *Crypto-Giardia* Test assures its high degree of specificity for antigens of *C. parvum* and *G. lamblia*. This test shows >98% of specificity compared with commercial ELISA assays.

REFERENCES

1. MARSHALL, M.M., et al., "Waterborne Protozoan Pathogens", *Clinical Microbiology Review*, Jan. 1997, pp 67-85
2. DYLAN R. PILLAI and KEVIN C. KAIN, "Immunochromatographic Strip-Based Detection of *Entamoeba histolytica*-*E. dispar* and *Giardia lamblia* Coproantigen". *Journal of Clinical Microbiology*, Sept. 1999, Vol. 37, No 9, p. 3017-3019.
3. LYNNE S. GARCIA et al., "Commercial Assay for Detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* Antigens in Human Fecal Specimens by Rapid Solid-Phase Qualitative Immunochromatography", *Journal of Clinical Microbiology*, Jan. 2003, Vol. 41, No. 1, p. 209-212.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	In vitro diagnostic device		Batch code
	Consult instructions for use		Catalogue number
	Keep dry		Contains sufficient for <n> tests
	Temperature limitation		Manufacturer
	Use by		Do not use if package damaged



USO PREVISTO

CerTest *Crypto-Giardia* Card es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección de la cualitativa de *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* en heces.

INTRODUCCIÓN

Giardia y *Cryptosporidium* son parásitos que se encuentran en el agua. *Giardia* provoca una enfermedad intestinal llamada giardiasis. *Cryptosporidium* es responsable de una enfermedad muy similar llamada cryptosporidiosis. Estos parásitos son una de las causas más frecuentes de enfermedades transmitidas a través del agua en humanos.

La giardiasis es una enfermedad intestinal ocasionada por *Giardia intestinalis* (llamado también *Giardia lamblia*), un parásito microscópico unicelular que se encuentra en el intestino de las personas y los animales y se transmite a través de las heces de una persona o animal infectado. Este parásito está protegido por una cubierta exterior (quiste) que le permite sobrevivir fuera del cuerpo y en el medio ambiente durante largos periodos de tiempo. Entre los síntomas más comunes figuran diarrea, deposiciones acuosas, calambres y trastornos estomacales.

Cryptosporidium parvum es el causante más frecuente de procesos diarreicos en los países en desarrollo. Este parásito se localiza en la mayoría de las infecciones patógenas entéricas, su forma infectiva se transmite por vía feco-oral. Algunos de los síntomas más comunes de la Cryptosporidiosis son diarrea acuosa, dolores agudos de estómago, pérdida de peso, náuseas y alguna vez fiebre.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest *Crypto-Giardia* Card utiliza un nuevo sistema inmunocromatográfico de un solo paso con partículas de látex coloreadas. Es un test fácil de usar el cual solamente necesita diluir la muestra de heces problema con el tampón incluido en un formato listo para usar.

La especificidad está asegurada al utilizar directamente anticuerpos monoclonales frente a antígenos de membrana de *Cryptosporidium* y *Giardia*. Estos reactivos se han conjugado con partículas de látex coloreadas y fijadas a una membrana de nitrocelulosa. La muestra líquida y el conjugado de partículas de látex coloreadas migran por acción capilar. Ante la presencia de antígenos de *Giardia* habrá una unión en la primera línea de resultados (azul) donde hay fijados anticuerpos anti-*Giardia*. El proceso continúa hacia la segunda línea (verde) específica para *Cryptosporidium*, si este parásito se encuentra en la muestra reaccionará frente a los anticuerpos anti-*Cryptosporidium* fijados y se formará una línea de color rojo. La mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado otros anticuerpos y siempre aparecerá una línea de color VERDE (línea de control). La aparición de esta línea se utiliza para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente y que el flujo ha sido apropiado; y como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30° C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

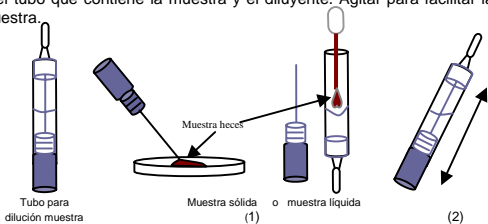
- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio y la prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la recogida. Las muestras se deben conservar en frío (sólo 1 ó 2 días a 2-4 °C) hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20°C. La muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

- (1) Desenroscar el tapon y con ayuda del palito se toma una muestra de las heces recogidas. Para ello se pasa el palito por la muestra recogiendo una pequeña cantidad de heces, si la muestra fuera líquida se tomarán 100 µL de la misma con una pipeta, introducir la muestra en el tubo para dilución.
- (2) Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitar para facilitar la dispersión de la muestra.



MATERIALES SUMINISTRADOS

- Dispositivos de reacción
- Instrucciones de uso
- Tubos de dilución de muestras con tampón para muestra

MATERIALES NECESARIOS-NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para la recogida de la muestra de heces
- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO

Previamente el dispositivo, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.

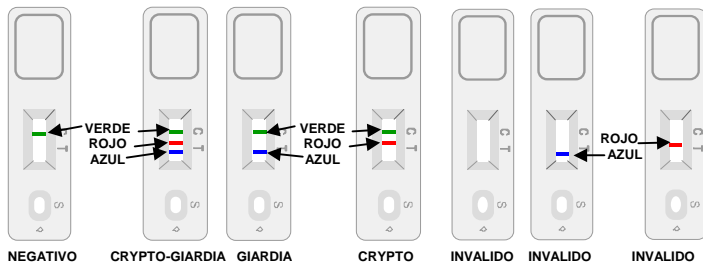
1. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón (3).
2. Sacar el dispositivo de reacción CerTest *Crypto-Giardia* Card de su envase para utilizarlo inmediatamente.
3. Para cada muestra o control se debe usar un tubo de dilución de la muestra y un dispositivo diferente. Tomar 5 gotas o 150 µL del líquido y depositarlas en la ventana circular marcada con una flecha o una S en el dispositivo, evitando añadir partículas sólidas con el líquido (4).

Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas en la ventana circular, retirarlas y añadir una gota de tampón hasta que se vea avanzar al líquido (zona de reacción y de control).

4. Leer el resultado a los **10 minutos** (las líneas coloreadas aparecen).



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana central del dispositivo de reacción, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

CRYPTO POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA (línea de resultado de *Crypto*) en la zona marcada con la letra T (zona de resultado).

GIARDIA POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea AZUL (línea de resultado de *Giardia*) en la zona marcada con la letra T (zona de resultado).

CRYPTO-GIARDIA POSITIVO: Todas las líneas anteriores aparecen al mismo tiempo durante la prueba debido a una infección simultánea de *Crypto* y *Giardia*. Se vería una línea VERDE en la zona de control y una línea ROJA y una AZUL en la zona de resultado.

INVALIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece independientemente de que aparezca o no una o las dos líneas de resultado (ROJA y/o AZUL). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una cantidad insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo dispositivo de reacción. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

OBSERVACIONES

La intensidad de la línea de color azul en la zona de resultado (T) del dispositivo de reacción variará dependiendo de la concentración de antígeno presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de los antígenos de *Cryptosporidium* y/o *Giardia* pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la zona de control (C) es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

1. Una vez abierto, el dispositivo no debe usarse después de 2 horas.
2. Un exceso de muestra puede dar resultados negativos, dando líneas no muy definidas de color pardo que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra en más tampón y repetir el ensayo.
3. Después de una semana de infección la presencia de parásitos eliminados en heces disminuye considerablemente por lo que es probable una menor concentración en la muestra. Se debe tomar la muestra de heces dentro de la primera semana de aparición de los síntomas.
4. Esta prueba diagnóstica posibles enfermedades Cryptosporidiosis y/o Giardiasis, situaciones que debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, teniendo en cuenta las pruebas clínicas y de laboratorio evaluadas.

VALORES PREVISTOS

Se esperan resultados negativos en pacientes no infectados con *Cryptosporidium parvum* ni *Giardia lamblia*. Esta prueba debe utilizarse únicamente para el diagnóstico de Cryptosporidiosis y Giardiasis.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad

Se han realizado estudios y evaluaciones para comparar la eficacia del test. CerTest *Crypto-Giardia* Test se evaluó en paralelo con tests ELISAs del mercado para detección de *C. parvum* y *G. lamblia*.

La detección de *C. parvum* muestra 95% de concordancia en sensibilidad.

La detección de *G. lamblia* muestra 95% de concordancia en sensibilidad.

Especificidad

El uso de anticuerpos monoclonales de ratón en la elaboración de CerTest *Crypto-Giardia* Test asegura un alto grado de especificidad para los antígenos de *C. parvum* y *G. lamblia*. Este test muestra > 98% de especificidad frente a los otros tests ELISAs del mercado.

BIBLIOGRAFÍA

1. MARSHALL, M.M., et al., "Waterborne Protozoan Pathogens", *Clinical Microbiology Review*, Jan. 1997, pp 67-85
2. DYLAN R. PILLAI and KEVIN C. KAIN, "Immunochromatographic Strip-Based Detection of *Entamoeba histolytica*-*E. dispar* and *Giardia lamblia* Coproantigen". *Journal of Clinical Microbiology*, Sept. 1999, Vol. 37, No 9, p. 3017-3019.
3. LYNNE S. GARCIA et al., "Commercial Assay for Detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* Antigens in Human Fecal Specimens by Rapid Solid-Phase Qualitative Immunochromatography", *Journal of Clinical Microbiology*, Jan. 2003, Vol. 41, No. 1, p. 209-212.

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

