

FIGURE 1: CRYPTO/GIARDIA CEL DIAGRAM FOR USE

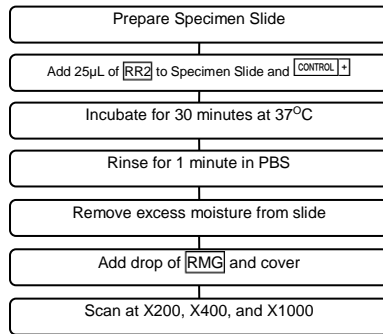


TABLE 1: SENSITIVITY, SPECIFICITY, & OTHER DATA ON THE CRYPTO/GIARDIA CEL

Trial Essai Versuch Prova Prueba Teste Forsøg	Sensitivity Sensibilité Sensitivität Sensibilita' Sensibilidad Sensibilidade Sensitivitet	Specificity Spécificité Spezifität Specificita' Especificidad Especificidade Specificitet	Repeatability Répétabilité Wiederholpräzision Ripetibilità Repetibilidad Repetição Repeterbarhed	Reproducibility Reproductibilité Reproduzierbarkeit Riproducibilita Reproducibilidad Reproduzibilidade Reproducerbarhed
A	100%	100%	-	-
B	-	-	100% Correlation	100% Correlation
<p>Not cross reactive with / Pas de Réaction Croisée avec / Keine Kreuzreaktionen mit / Non mostra reazioni crociate con / No muestra reacción cruzada con / Não apresenta reações cruzadas com / Krydsreagerer ikke med: <i>Strongyloides stercoralis larva, Enterobius vermicularis ova, Opisthorchis viverrini ova, Hook Worm ova, Trichuris trichiura ova, Hymenolepis nana ova, Blastocystis hominis cysts, Entamoeba coli cysts, Endolimax nana cysts, Entamoeba hartmanni cysts, Eimeria tenella, Toxoplasma gondii, Trichomonas hominis, Iospora belli, Microsporidium sp., Pneumocystis carinii, Candida sp., Aspergillus sp., Listeria sp., Legionella sp., Erysipelothrix sp., Escherichia sp., Lactobacillus sp., Streptococcus sp., Staphylococcus sp., Bacillus sp., Clostridium sp., Brochothrix sp., Corynebacterium sp.</i></p>				

EXPLANATION OF SYMBOLS

- Consult Instructions for Use
- In Vitro Diagnostic Medical Device
- Temperature Limitation
2°C to 8°C
- Batch
- Control Positive
- Use By/Expiration Date
- Do Not Re-use

Cellabs Pty Ltd
 Unit 7, 27 Dale Street
 Brookvale, NSW 2100 Australia
 Tel: +61 2 9905 0133 Fax: +61 2 9905 6426
 Web: <http://www.cellabs.com.au>
 Email: sales@cellabs.com.au

WMDE
 Bergerweg 18
 6085 AT Horn
 The Netherlands

en fr de it es pt da
 LR2.14.1
 23 May 2017



CRYPTO/GIARDIA CEL

English
 Product Code: KR2

INTENDED USE AND PRINCIPLE OF THE TEST

The Crypto/Giardia Cel IF Test is an *in vitro* direct immunofluorescence test for the simultaneous detection of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in faecal and environmental specimens. The fluorescein-labelled mouse monoclonal antibody reagent binds specifically to *Cryptosporidium* oocysts and/or *Giardia* cysts in the specimen. Organisms display bright green fluorescence with typical morphology.

CONTENTS OF THE KIT

		KR2 Standard	Bulk
	Crypto/Giardia Cel Reagent	1.25mL	5mL
	Positive Control Slide (Single Use only)	1	-
	Mounting Fluid	2.5mL	-
		Tests	50
			200

Materials are supplied ready for use. Store at 2-8°C. Expiry dates are clearly marked on each kit component and on the box. Expiry dates do not change once opened.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Microscope slides with 6-8mm diameter wells; precision pipette for delivering 25µL; acetone for specimen fixation; humid chamber; wash bath; phosphate buffered saline (PBS) for washing step; cover slips; non-fluorescing immersion oil; and fluorescence microscope with filter system for FITC (maximum excitation wavelength 490nm, mean emission wavelength 530nm) and x200-x1000 magnification.

PRECAUTIONS

For *in vitro* diagnostic use only. Do not use after the expiry date shown on the label. If protective packaging is damaged, contact your local distributor and ask for a replacement. Do not mix components from different kits. The Crypto/Giardia Cel Reagent has been optimised for use with Cellabs Positive Control Slide and Mounting Fluid. Evans Blue dye contained in the test reagent is a possible carcinogen, therefore avoid contact with the skin. Patient specimens and the positive control slide should be handled as though potentially infectious. The detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* from water is dependent on the efficient filtration and recovery from large volumes of water (500-1000L). A Positive Control Slide must be run with each test run. Refer to Material Safety Data Sheet (MSDS) for further information.

SPECIMEN PREPARATION

Stool specimens, either fresh or preserved in 10% formalin or SAF may be used (Specimens treated with other fixatives have not been tested). A procedure for processing fresh stool specimens is described below. If stool specimens are not processed immediately they may be stored at 2-8°C for 24-48 hours. Stools may be concentrated prior to processing using concentration kits. They may also be concentrated by the formalin-ether sedimentation method.

Prepare an approximate 1/10-1/50 dilution of stool. Dilute 50µL or 5mm diameter of stool in PBS with 0.1% sodium azide and mix thoroughly to disperse the specimen using an applicator stick and allow large stool particles to sediment.

PREPARATION OF SLIDES

- Place 20µL of the faecal or concentrated specimen from water onto a microscope slide.
- Allow the specimen to completely air dry.
- Fix the slides for 5 minutes in acetone and allow to air dry.

INSTRUCTIONS FOR USE

- Add 25µL of to the fixed specimen and , covering well area.
- Incubate the slides at 37°C in a humid chamber for 30 minutes. Do not allow the slides to dry as this may cause non-specific binding.
- Rinse gently in a bath of PBS for one minute.
- Drain slide and remove excess moisture around well with tissue.
- Add a drop of to the slide well. Place a coverslip on top of the drop and remove air bubbles.
- Scan the entire specimen using a fluorescence microscope initially at X200 magnification, then at X400, and X1000 for confirmation. Read immediately or store at 2-8°C in the dark for up to 24 hours.

READING AND INTERPRETATION OF RESULTS AND DIAGNOSIS

Cryptosporidium oocysts are 2-6µm in size, round or oval in shape with bright green fluorescence. A fold or suture can be seen on the surface. This suture is less apparent in environmental samples. *Giardia* cysts are 8-12µm in size, elliptical in shape with bright green fluorescence. The test may be considered positive if one or more oocysts or cysts are present. The organisms, if present together in the same specimen, may be distinguished by the difference in their size and shape. Both organisms are seen against a background of reddish brown counterstained material. A comparison should be made with the positive control slide for the appearance of the organisms. Negative specimens should have signs of faecal material containing debris such as undigested food particles, cells (counterstained red-brown), and possibly other organisms such as bacteria and protozoa, and should not show any organisms of characteristic green fluorescence and morphology. Non-specific fluorescence may occur in some specimens but this may be distinguished morphologically from the *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts. Algae may be present in environmental specimens and these fluoresce red-orange.

WASTE DISPOSAL

Dispose of any unused components as biohazardous waste. Where the test reagent has been disposed of in the sink, ensure it is flushed with large quantities of water (as the sodium azide it contains may react with copper/lead plumbing systems). For more information, please refer to the MSDS.

SENSITIVITY, SPECIFICITY, & OTHER DATA ON THE CRYPTO/GIARDIA CEL

Refer to summary table at end of insert. All data on the Crypto/Giardia Cel can be obtained in the product information sheet. Please ask your local distributor or contact Cellabs.

INDEMNITY NOTICE




Modifications or changes made in the recommended procedure may affect the stated or implied claims. A positive or negative result does not preclude the presence of other underlying causative agents. Cellabs and its agents and distributors shall not be liable for damages under these circumstances.

CRYPTO/GIARDIA CEL

UTILIZAÇÃO E PRINCIPIO DO TESTE

O teste Crypto/Giardia Cel IF é um teste *in vitro* directo por imunofluorescência para a detecção simultânea de cistos de *Giardia* e de oocistos de *Cryptosporidium* em amostras fecais e ambientais. O reagente de anticorpo monoclonal de rato marcado com fluoresceína liga-se, especificamente, aos oocistos de *Cryptosporidium* e/ou aos cistos de *Giardia* na amostra. Estes apresentam uma cor verde fluorescente com morfologia típica.

CONTEUDO DO KIT

		KR2 Standard	Bulk
	Reagente Giardia/Crypto Cel	1.25mL	5mL
	Lâmina de controlo positivo (para uma utilização)	1	-
	Meio de Montagem	2.5mL	-
	<i>Testes</i>	<i>50</i>	<i>200</i>

Os materiais fornecidos estão prontos para uso. Conservar a 2-8°C. As datas de validade estão referidas em cada componente do kit e na caixa do mesmo. As datas de validade não se alteram com a abertura dos componentes.

MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO É FORNECIDO

Lâminas de microscópio com poços de 6-8mm de diâmetro; pipeta de precisão para dispensar 25µL; acetona para fixar a amostra; câmara de humidade; recipiente de lavagem; Tampão fosfato salino (PBS) para etapa de lavagem; laminulas; óleo de imersão não-fluorescente; microscópio de fluorescência com sistema de filtro para FITC (distância máxima de onda 490nm, emissão média 530nm) inicialmente a 200X, e posteriormente, a 400X e 1000X de aumento.

PRECAUÇÕES

Apenas para diagnóstico *in vitro*. Não utilizar após ter passado a data de validade. Se a embalagem protetora for danificada, contactar o representante local e pedir a substituição por uma nova. Não misturar componentes de kits diferentes. O Reagente Giardia/Crypto Cel foi optimizado para a utilização com a lâmina de controlo positivo e o meio de montagem fornecidos pela Cellabs. O Evans Blue, presente no reagente, é um possível cancerígeno, e por isso deve ser evitado o contacto com a pele. As amostras de doentes e o slide controle positivo devem ser manuseados como sendo potencialmente infecciosos. A detecção de *Cryptosporidium* e *Giardia* em água depende da filtração e da recuperação do parasita a partir de grandes volumes e água. (500-1000L) Em cada série de testes deve ser executada uma lâmina correspondente ao Controlo Positivo. Consultar a ficha de segurança do produto (MSDS) para mais informações.

PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS




Podem ser utilizadas amostras fecais, frescas ou conservadas em 10% de formalina ou em SAF. (amostras tratadas com outros fixadores ainda não foram testadas) O procedimento para amostras fecais frescas é descrito em baixo. Se não forem analisadas imediatamente, as amostras podem ser conservadas a 2-8°C durante 24 a 48 horas. As amostras podem ser conservadas antes utilização com o auxílio de kits específicos para esse efeito. Podem também ser conservados segundo o método de sedimentação com formalina-éter.

Preparar uma diluição aproximada de 1/10-1/50 da amostra. Diluir 50 µL ou 5mm de diâmetro da amostra fecal em PBS com 0.1% de azida de sódio e misturar bem para que a amostra se disperse utilizando um bastão de aplicação deixando que as partículas fecais sedimentem.

PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS

- Colocar 20µL de amostra fecal ou amostra concentrada proveniente de água numa lâmina microscópica.
- Deixar a amostra secar ao ar completamente.
- Fixar as lâminas durante 5 minutos em acetona e deixar secar ao ar.

INSTRUÇÕES DE USO

- Adicionar 25µL de  à amostra já fixada e a , abrangendo bem toda a área.
- Incubar as lâminas a 37°C numa câmara de humidade durante 30 minutos. Não deixar que as lâminas sequem; isto pode causar ligações não-específicas.
- Passar suavemente por uma lavagem de PBS por um minuto.
- Enxagar e remover eventual humidade à volta do poço com papel absorvente.
- Adicionar uma gota de  ao poço da lâmina. Colocar a laminula sobre a gota retirando as bolhas de ar.
- Analisar toda a amostra com o auxílio de um microscópio de fluorescência, inicialmente com aumento de 200X, depois a 400X e a 1000X para efeitos de confirmação. Ler de imediato ou conservar a 2-8oC no escuro num período máximo de 24 horas.

LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS E DO DIAGNÓSTICO

Os oocistos de *Cryptosporidium* medem 2-6µm, de forma redonda ou oval com fluorescência verde clara. Na superfície, pode observar-se uma dobra ou sutura. Esta é menos aparente em amostras ambientais. Os cistos *Giardia* medem 8-12µm, tem forma elíptica com fluorescência verde clara. Se for observado, no mínimo, um cisto ou oocistos o teste pode ser considerado positivo. Se estes organismos estiverem ambos presentes na mesma amostra podem ser distinguidos pelas diferenças no tamanho e na forma. Deverá ser feita uma comparação com a lâmina de controlo positivo para verificar o surgimento de organismos. As amostras negativas devem ter sinais de matéria fecal contendo vestígios tais como partículas de comida não digeridas, células (com coloração de contraste castanha-avermelhada), e possivelmente, de outros organismos tais como bactérias e protozoários e não deverá apresentar nenhum organismo de característica verde fluorescência ou morfologia semelhante à de *Giardia*. Por vezes, podem ser observadas fluorescência não específica mas estas, geralmente, podem ser distinguidas dos oocistos de *Cryptosporidium* e os cistos de *Giardia*. Podem surgir algas nas amostras ambientais e estas surgem com uma cor vermelha-laranja fluorescente.

ELIMINAÇÃO DOS RESÍDUOS

Eliminar Segundo boas práticas todo material de risco biológico. Quando o reagente for despejado no lavatório verificar que isto é feito com quantidades abundantes de água. (este contém azida de sódio e pode reagir com as canalizações de cobre ou chumbo) Para mais informações consulte a MSDS.

SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, & OUTROS DADOS DO CRYPTO/GIARDIA CEL

Consultar sumário no final do folheto de instruções. Todos os dados sobre o Crypto/Giardia Cel podem ser consultados na folha de informação do produto. Contacte o distribuidor ou contacte a Cellabs.

NOTA SOBRE POSSÍVEIS INDEMNIZAÇÕES



As modificações realizadas aparte do protocolo recomendado podem afetar os resultados. Um resultado positivo ou negativo não exclui a presença de outros agentes causadores subjacentes. A Cellabs e os seus distribuidores não serão legalmente responsáveis por qualquer dano nestas circunstâncias.

CRYPTO/GIARDIA CEL

VERWENDUNGSZWECK UND TESTPRINZIP

Der Crypto/Giardia Cel IF Test ist ein direkter *in vitro* Immunfluoreszenztest zur gleichzeitigen Erkennung und Diagnose von Kryptosporidien-Oozysten und Giardia-Zysten im Stuhl von Patienten und in Umweltproben. Die Fluorescein-markierten monoklonalen Maus-Antikörper binden spezifisch an Giardia-Zysten und/oder Kryptosporidien-Oozysten in der Probe. Die Organismen zeigen hellgrüne Fluoreszenz mit typischer Morphologie.

INHALT DES KITS

		KR2 Standard	Bulk
	Crypto/Giardia Cel Reagenz	1.25ml	5ml
	Positiver Kontrollobjekträger (zum einmaligen Gebrauch)	1	-
	Einbettungsmedium	2.5ml	-
	<i>Testes</i>	<i>50</i>	<i>200</i>

Alle gelieferten Materialien sind gebrauchsfertig. Alle Komponenten sollten zwischen 2-8 °C gelagert werden. Das Verfalldatum ist auf jeder Kitkomponente und der Box deutlich gekennzeichnet. Die Verfalldaten ändern sich nicht nach dem Öffnen.

MATERIAL DAS BENÖTIGT ABER NICHT IM KIT DELIEFERT WIRD

Objekträger mit Testfeldern von 6-8 mm Durchmesser; Mikropipetten mit Einmalspitzen zum Pipettieren von 25µl; Azeton zur Fixierung der Proben; feuchte Kammer; Wasserbad; PBS zum Waschen; Deckgläser; nicht fluoreszierende Ölimmersion; Fluoreszenzmikroskop mit Filtersystem für FITC (maximale Exzitationswellenlänge 490 nm, mittlere Emissionswellenlänge 530nm) sowie 200- bis 1000-facher Vergrößerung.

VORKEHRUNGEN

Nur für die *in vitro* Diagnostik geeignet. Reagenzien sollten nicht nach dem Verfalldatum benutzt werden. Reagenzien von verschiedenen Kits sollten nicht gemischt werden. Das Crypto/Giardia Cel Bulk-Reagenz wurde für den Gebrauch mit den positiven Kontrollen von Cellabs sowie dem mitgelieferten Einbettungsmedium optimiert. Evans Blau, das sich im IF-Reagenz befindet, ist ein mögliches Karzinogen, deshalb sollten Sie Kontakt mit der Haut meiden. Alle klinischen und Kontrollmaterialien sollten behandelt werden als wären sie potentiell infektiös und nach den jeweils laborüblichen Vorschriften entsorgt werden. Ein Positiver Kontrollobjekträger muss bei jedem Testlauf mitgeführt werden. Weitere Informationen finden Sie in den jeweiligen Sicherheitsdatenblättern zu den einzelnen Materialien.

PROBENGWINNUNG




Stuhlproben können entweder frisch oder in 10% Formalin oder SAF konserviert verwendet werden. (Proben die mit anderen Fixierungsmethoden behandelt wurden, wurden nicht untersucht.) Die Handhabung frischer Stuhlproben ist unten beschrieben. Falls Stuhlproben nicht sofort untersucht werden, können sie bei 2-8 °C für 24-48 h gelagert werden. Stuhl kann vor dem Verarbeiten mittels Konzentrations-Kits konzentriert werden. Er kann auch mit der Formalin-Äther-Sedimentationmethode konzentriert werden.

Bereiten Sie eine 1/10- bis 1/50-Verdünnung der Stuhlprobe vor. Verdünnen Sie 50µl oder 5mm Stuhldurchmesser in PBS mit 0,1% Natriumazid und mischen dies gründlich mittels eines Stäbchens, um die Probe zu verteilen. Große Stuhlpartikel absetzen lassen.

VORBEREITUNG DER OBJEKTRÄGER

- 20µl der Stuhlprobe oder des aus Wasser konzentrierten Materials auf das Testfeld eines Objekträgers bringen.
- Die Probe trocken lassen.
- 5 Minuten mit Azeton fixieren. Danach erneut trocken.

CRYPTO/GIARDIA CEL GEBRAUCHSANLEITUNG

- 25µl  zu der fixierten Probe sowie dem , geben Das gesamte Testfeld soll bedeckt sein. Reagenz nach dem Gebrauch sofort wieder bei 2-8 °C lagern.
- 30 Minuten bei 37 °C in der feuchten Kammer im Dunkeln inkubieren. Die Objekträger dürfen nicht austrocknen, weil dies unspezifische Bindungen bewirken kann.
- Vorsichtig in einem Bad mit PBS eine (1) Minute lang spülen.
- Flüssigkeit vom Objekträger ablaufen lassen und verbliebene Feuchtigkeit rund um das Testfeld mit einem Tuch abtupfen.
- Einen Tropfen  auf das Objekträger-Testfeld geben. Ein Deckelglas aufsetzen und Luftblasen entfernen.
- Die gesamte Probe im Fluoreszenzmikroskop mittels Ölimmersion bei bei anfänglich 200- dann 400- bis 1000-facher Vergrößerung durchsehen. Sofort ablesen oder bei 2-8 °C (im Dunkeln) bis maximal 24 Stunden lagern.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE UND DIAGNOSESTELLUNG

Kryptosporidien-Oozysten sind 2-6µm groß, rund oder oval und hellgrün fluoreszierend. Eine Falte oder ein Einschnitt auf der Oberfläche kann beobachtet werden. Diese Kerbe ist weniger auffallend in Umweltproben. Giardia-Zysten sind 8-12µm groß, elliptisch geformt und hellgrün fluoreszierend. Ein Test kann als positiv angesehen werden, wenn die fixierten Proben mindestens 1 Zyste oder Oozyste enthalten. Die Organismen können, sofern sie gleichzeitig in einer Probe vorkommen, durch ihre Größe und Form unterschieden werden. Beide Organismen sind vor einem rötlich-braunen Hintergrund zu sehen. Die Kontrollen sollten zum Vergleich des Aussehens der Organismen, die in der Proben gefunden werden, herangezogen werden. Negative Proben sollten Zeichen von fäkalem Material, wie Debris und nicht verdaute Speisereste, Zellen (gegengefärbtes rotbraunes Material) und möglicherweise andere Organismen, wie Bakterien und Protozoen, aufweisen und sollten keine Organismen mit charakteristischer grüner Fluoreszenz und Morphologie beinhalten. Nicht spezifische Fluoreszenz kann in einigen Fällen auftreten. Diese kann jedoch morphologisch von Giardia-Zysten oder Kryptosporidien-Oozysten unterschieden werden. Algen können in Umweltproben vorkommen und fluoreszieren rot-orange.

ENTSORGUNGSHINWEISE

Alle nicht benötigten Komponenten müssen als biogefährdender Abfall entsorgt werden. Wenn das Test-Reagenz in das Waschbecken geschüttet wurde, muß mit großen Mengen Wasser nachgespült werden, da das darin enthaltene Natriumazid mit Kupfer-/Bleiverbindungen des Rohrleitungssystems reagieren kann. Für mehr Informationen siehe die Sicherheitsdatenblätter.

SENSITIVITÄT, SPEZIFITÄT UND ANDERE DATEN ZUM CRYPTO/GIARDIA CEL

Siehe zusammenfassende Tabelle am Ende dieser Anleitung. Alle Daten zum Crypto/Giardia Cel können aus der Produktinformation entnommen werden. Fragen Sie bitte Ihren lokalen Vertreter oder kontaktieren Sie Cellabs.

HAFTUNGSAUSSCHLUSS

Änderungen oder Modifikationen der empfohlenen Durchführung können die gemachten oder gefolgerten Angaben beeinflussen. Ein positives oder negatives Ergebnis schließt nicht andere zugrunde- liegende Krankheiten aus. Cellabs und seine Vertreter sind für Folgen derartiger Konstellation nicht haftbar.

CRYPTO/GIARDIA CEL

IMPIEGO E PRINCIPIO DEL TEST

Il Crypto/Giardia Cel IF Test è un test in immunofluorescenza diretta *in vitro* per la rilevazione contemporanea di oocisti di *Cryptosporidium* e cisti di *Giardia* in campioni fecali ed ambientali. L'anticorpo monoclonale di topo marcato con fluoresceina si lega specificamente alle oocisti di *Cryptosporidium* e/o alle cisti di *Giardia* presenti nel campione. Gli organismi mostrano una brillante fluorescenza verde ed una morfologia tipica.

CONTENUTO DEL KIT

	KR2 Standard	Bulk
RR2	Reagente Crypto/Giardia Cel	1.25mL
CONTROL +	Vetrino di Controllo Positivo (solo ad uso singolo)	1
RMG	Mezzo di montaggio	2.5mL
	<i>Campioni</i>	<i>50</i>
		<i>200</i>

I materiali sono forniti pronti all'uso. Conservare a 2-8°C. Le date di scadenza sono chiaramente marcate su ogni componente del kit e sulla confezione. Le date di scadenza non cambiano una volta aperte le confezioni.

MATERIALE RICHiesto MA NON FORNITO

Vetrini per microscopio con pozzetti di diametro 6-8 mm; pipetta di precisione per distribuire 25µL; acetone per fissare il campione; camera umida; vaschetta di lavaggio; tampone fosfato salino (PBS) per il lavaggio; vetrini coprioggetto; olio per immersione non fluorescente; microscopio a fluorescenza con sistema di filtraggio FITC (lunghezza d'onda di eccitazione massima 490nm, lunghezza d'onda media 530nm) e ingrandimento 200x-1000x.

PRECAUZIONI

Solo per uso diagnostico *in vitro*. Non usare dopo la data di scadenza mostrata sull'etichetta. Se l'imballo protettivo è danneggiato, contattare il distributore di zona e chiedere una sostituzione. Non mischiare i componenti provenienti da kit diversi. Crypto/Giardia Cel Reagent è stato ottimizzato per l'impiego insieme al Vetrino di Controllo Positivo Cellabs e al Mezzo di Montaggio Cellabs. Il colorante Evans Blue contenuto nel reagente del test può essere cancerogeno, quindi evitare il contatto con la pelle. I campioni clinici e i vetrini di controllo positivo devono essere maneggiati come potenzialmente infetti. Si deve eseguire un Vetrino di Controllo Positivo con ogni test eseguito. Per maggiori informazioni consultare la scheda di sicurezza del prodotto (MSDS).

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Possono essere usati campioni di feci fresche o conservate in formalina al 10% o SAF (Campioni trattati con altri fissativi non possono essere utilizzati). La procedura per il trattamento di campioni di feci fresche è descritta di seguito. Se i campioni di feci non sono analizzati immediatamente devono essere conservati a 2-8°C per 24-48 ore. Le feci possono essere concentrate prima di essere processate usando un kit adatto. Potrebbero essere concentrate anche utilizzando il metodo di sedimentazione attraverso etere-formalina.

Per le feci preparare una diluizione 1/10-1/50. Diluire 50µL o di un campione di feci del diametro di circa 5mm in PBS con sodio azide 0.1% e miscelare attentamente per disperdere il campione utilizzando un bastoncino di applicazione e permettere a grosse particelle di feci di sedimentare.

PREPARAZIONE DEI VETRINI

1. Dispensare 20µL di campione fecale o campione concentrato proveniente dall'acqua su di un vetrino da microscopio.
2. Consentire la completa essiccazione all'aria del campione.
3. Fissare il vetrino in acetone per 5 minuti e permettere l'essiccazione all'aria.

ISTRUZIONI PER L'USO

1. Aggiungere 25µL di **RR2** allo striscio del campione fissato e **CONTROL +**, coprendo l'intera area del pozzetto.
2. Incubare i vetrini a 37°C in camera umida per 30 minuti. Non lasciare che i vetrini si asciughino onde evitare legami aspecifici.
3. Lavare delicatamente in una vaschetta con PBS per un minuto.
4. Drenare il vetrino e rimuovere l'eccesso di umidità intorno ai pozzetti con del tessuto.
5. Aggiungere una goccia **RMG** sul pozzetto del vetrino. Deposare un vetrino copri oggetto sulla goccia ed eliminare le bolle d'aria.
6. Analizzare l'intero campione con un microscopio a fluorescenza iniziando con un ingrandimento di 200x, e successivamente con un ingrandimento di 400x e di 1000x per conferma. Leggere immediatamente o conservare a 2-8°C al buio per non più di 24 ore.

LETTURA, INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI E DIAGNOSI

Le oocisti di *Cryptosporidium* hanno una misura di 2-6µm, di forma rotonda od ovale con una brillante fluorescenza verde. Sulla superficie si può osservare una piega o una sutura. Questa sutura è meno evidente nei campioni ambientali. Le cisti di *Giardia* hanno una misura di 8-12µm, di forma ellittica con una brillante fluorescenza verde. Il test deve essere considerato positivo se sono presenti una o più cisti od oocisti. Qualora in un campione siano presenti entrambi i microrganismi, è possibile distinguerli in base alla loro misura ed alla loro morfologia. Entrambi gli organismi si vedono contro uno sfondo di materiale di contrasto marrone rossiccio. Il vetrino del controllo positivo dovrebbe essere utilizzato per confrontare morfologia e misura. I campioni negativi potrebbero indicare la presenza nel materiale fecale di detriti come particelle alimentari non digerite, cellule (con colorazione di contrasto rosso-marrone), e possibili altri organismi quali batteri e protozoi, e non devono contenere alcun organismo caratterizzato da fluorescenza verde e morfologia simile alle oocisti. Potrebbe essere rilevata una fluorescenza aspecifica in alcuni campioni che devono essere distinti morfologicamente dalle oocisti di *Cryptosporidium* e dalle cisti di *Giardia*. Nei campioni ambientali potrebbero essere presenti delle alghe che si evidenziano con una fluorescenza rosso-arancio.

RACCOMANDAZIONI PER LO SMALTIMENTO

Eliminare qualsiasi componente non utilizzato come rifiuto potenzialmente infettivo. Quando il reagente viene eliminato nel lavello, assicurarsi che sia dilavato con grande quantità d'acqua (poiché la sodio azide contenuta può reagire con le tubature di rame o piombo). Per maggiori informazioni consultare la scheda di sicurezza (MSDS).

SENSIBILITA', SPECIFICITA' ED ALTRI DATI SULLA CRYPTO/GIARDIA CEL

Vedere la tabella riassuntiva alla fine del foglio di istruzioni. Tutti i dati sulla Crypto/Giardia Cel sono disponibili sul foglio di istruzioni che è possibile richiedere al distributore di zona o contattando Cellabs.

AVVERTENZE SULL'INDENNIZZO

Modifiche o cambiamenti apportati alla procedura raccomandata possono modificare lo stato o causare reclami. A Un risultato positivo o negativo non preclude la presenza di altri importanti agenti eziologici. Cellabs ed i suoi distributori non saranno responsabili per i danni causati da questa eventualità.

CRYPTO/GIARDIA CEL

APLICACIONES Y PRINCIPIO DEL TEST

El test Crypto/Giardia Cel IF es un ensayo *in vitro* por inmunofluorescencia directa para la detección simultanea de oocitos de *Cryptosporidium* y quistes de *Giardia* en muestras fecales y medioambientales. El anticuerpo monoclonal de ratón conjugado con fluoresceína se une específicamente a los oocitos de *Cryptosporidium* y/o a los quistes de *Giardia* presentes en la muestra. Los organismos muestran una fluorescencia verde brillante con una morfología típica.

CONTENIDO DEL KIT

	KR2 Estándar	Bulk
RR2	Reactivo de Crypto/Giardia Cel	1.25mL
CONTROL +	Porta control positivo (un único uso)	1
RMG	Medio de montaje	2.5mL
	<i>Tests</i>	<i>50</i>
		<i>200</i>

Los materiales suministrados están listos para su uso. Almacenar a 2-8°C. Las fechas de caducidad están indicadas específicamente en cada uno de los componentes del kit y en el envase externo del mismo. Las fechas de caducidad indicadas no cambian tras la apertura.

MATERIALES REQUERIDOS QUE NO SE PROPORCIONAN

Portas para microscopía con pocillos de 6-8mm de diámetro; pipeta de precisión para añadir 25µL; acetona para la fijación de la muestra; cámara húmeda; cubeta para lavado; tapón fosfato (PBS) para el paso de lavado; cubres; aceite de inmersión no fluorescente; y microscopio de fluorescencia con sistema de filtro para FITC (longitud de onda de excitación máxima 490nm, longitud de onda de emisión media 530nm) y x200-x1000 aumentos.

PRECAUCIONES

Para utilización exclusiva en el diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Si se observase que el envase exterior está dañado, contactar con su distribuidor local y solicitar un kit nuevo. No mezclar componentes de diferentes kits. El reactivo Crypto/Giardia Cel se ha optimizado para su uso con el porta control positivo y el medio de montaje de Cellabs. El colorante de contraste azul de Evans incluido en el reactivo del test es un posible carcinógeno, por lo que debe evitarse el contacto con la piel. Las muestras de los pacientes y el porta control positivo deberían manipularse como si se tratase de material potencialmente infeccioso. La detección de *Cryptosporidium* y *Giardia* en agua depende de una filtración y recuperación eficientes a partir de grandes cantidades de agua (500-1000L). Debe incluirse un porta de control positivo en cada ensayo. Para más información al respecto, consultar la ficha de datos de seguridad (FDS).

PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Pueden emplearse muestras fecales, recientes o conservadas con formalina al 10% o SAF (No se han ensayado muestras tratadas con otros fijadores). A continuación se describe un protocolo para el procesamiento de muestras fecales frescas. Si la muestra fecal no va a testarse de inmediato, puede almacenarse a 2-8°C durante24-48 horas. Las muestras fecales se pueden concentrar antes de su empleo usando kits de concentración. También se pueden concentrar por el método de sedimentación con formalina-éter.

Preparar una dilución aproximada de 1/10-1/50 de muestra fecal. Diluir 50µL o 5mm de diámetro de heces en PBS con azida sódica al 0.1% y mezclar bien para dispersar la muestra con ayuda de una varilla aplicadora, permitiendo que sedimenten las partículas de mayor tamaño.

PREPARACIÓN DE LOS PORTAS

1. Colocar 20µL de la muestra fecal o concentrada a partir del agua sobre un porta.
2. Dejar secar la muestra al aire completamente.
3. Fijar los portas durante cinco minutos en acetona y dejar secar al aire.

INSTRUCCIONES DE USO

1. Añadir 25µL de **RR2** a la muestra fijada y **CONTROL +**, cubriendo el área del pocillo.
2. Incubar los portas a 37°C en una cámara húmeda durante 30 minutos. Evitar que los portas se sequen, ya que esto podría dar lugar a uniones inespecíficas.
3. Lavar con cuidado en un baño de PBS durante un minuto.
4. Escurrir el líquido del porta y eliminar el exceso de humedad alrededor del pocillo con papel secante.
5. Añadir una gota de **RMG** al pocillo del porta. Colocar un cubre sobre la gota y eliminar las burbujas.
6. Leer la muestra completa usando un microscopio de fluorescencia, inicialmente a X200 aumentos, y posteriormente a x400, y X1000 aumentos para confirmar. Leer inmediatamente o almacenar a 2-8°C en oscuridad hasta un máximo de 24 horas.

LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS Y DIAGNÓSTICO

Los oocitos de *Cryptosporidium* tienen un tamaño de 2-6µm, una forma redonda u ovalada y una fluorescencia verde brillante. Se aprecia un pliegue o sutura en su superficie, que resulta menos evidente en las muestras medioambientales. Los quistes de *Giardia* tienen un tamaño de 8-12µm, y una forma elíptica con una fluorescencia verde brillante. El test puede considerarse positivo si aparecen uno o más oocitos o quistes Los organismos, si se dan juntos en la misma muestra, pueden distinguirse por sus diferencias de forma y tamaño. Ambos organismos destacan sobre un fondo marrón rojizo obtenido con el colorante de contraste. El porta control positivo debe usarse para comparar el aspecto y el tamaño de los organismos. Las muestras negativas pueden presentar trazas de partículas fecales que contengan residuos tales como partículas de alimentos sin digerir , células (teñidas con colorante de contraste marrón rojizo), y posiblemente otros organismos, tales como bacterias y protozoos, y no deberían mostrar ningún organismo de fluorescencia verde y morfología característica. En algunas muestras podría aparecer fluorescencia inespecífica, pero puede distinguirse de los oocitos de *Cryptosporidium* y de los quistes de *Giardia* por su morfología. En las muestras medioambientales pueden aparecer algas, que presentan una fluorescencia rojiza-anaranjada.

ELIMINACIÓN DE LOS RESIDUOS

Los componentes sin usar deben eliminarse como material de riesgo biológico. Si el reactivo del test se elimina por el sistema de desagüe, asegurarse de enjuagarlo con abundante agua corriente (la azida sódica que contiene puede reaccionar con las conducciones de cobre o plomo). Para más información, consultar la ficha de datos de seguridad FDS.

SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, Y OTROS DATOS DEL CRYPTO/GIARDIA CEL

Consultar la tabla con el esquema del protocolo al final de este manual. Todos los datos sobre el ensayo de Crypto/Giardia Cel se pueden obtener en la ficha técnica del producto. Para más información, preguntar a su distribuidor local o contactar con Cellabs.

INFORMACIÓN SOBRE POSIBLES INDEMNIZACIONES

Las modificaciones o cambios realizados sobre el procedimiento recomendado pueden afectar a las posibles reclamaciones tanto directa como indirectamente. Un resultado positivo o negativo no excluye la presencia de otros agentes etiológicos subyacentes. Ni Cellabs ni sus agentes o distribuidores serán legalmente responsables por daños producidos bajo estas circunstancias.