

ProSpect[®] Microplate Assays

ProSpect[®] Microplate Assays REMEL aumentam a produtividade das retinas laboratoriais, permitindo testes simultâneos de 5 diferentes antígenos (entéricos, toxinas e vírus) com relevantes benefícios:

- Reagentes comuns para todos os kits
- Resultados em menos de duas horas
- ELISA com poucos passos
- Incubação em temperatura ambiente
- Alta sensibilidade e especificidade
- Leitura visual de fácil interpretação
- Anticorpos monoclonais: maior sensibilidade e especificidade
- Resultados não dependem de microrganismos viáveis
- Uso de pequenos volumes de amostras
- Confiança e qualidade OXOID / REMEL

ProSpect[®] maximiza a eficiência operacional, onde um técnico pode testar simultaneamente vários antígenos de uma mesma amostra.

ProSpect[®] permite o uso de reagentes comuns entre os 5 kits disponíveis.

ProSpect[®] permite resultados no mesmo dia, envolvendo apenas 5 minutos de manipulação.

Kits disponíveis:

ProSpect[®] <i>C. difficile</i> Toxina A/B (96 testes)	R244596
ProSpect[®] Giardia (96 testes)	R2458096
ProSpect[®] <i>Entamoeba histolytica</i> (96 testes)	R2456096
ProSpect[®] Cryptosporidium (96 testes)	R2454096
ProSpect[®] Rotavirus (96 testes)	R24920967

INSTRUÇÕES DE USO

PROSPECT GIARDIA KIT (CÓD. 2458024 – 24 testes / CÓD. 2458096 – 96 testes)

Ensaio ImunoEnzimático para detecção de antígeno *Giardia lamblia* sp em Microplaca

INTRODUÇÃO

A Giardíase é hoje reconhecida como uma doença intestinal humana importante na maioria das áreas do mundo. O organismo causador, *Giardia lamblia*, é um protozoário parasita mais frequentemente identificado em amostras de fezes apresentadas aos laboratórios de saúde pública dos Estados Unidos (3).

O Antígeno Específico da *Giardia* (GSA 65) é uma glicoproteína de peso molecular igual a 65.000, produzida em quantidades abundantes pela *Giardia lamblia* à medida que a mesma se multiplica no trato intestinal do hospedeiro.

A detecção desta macromolécula determina o diagnóstico de Giardíase uma vez que o antígeno, está presente apenas quando existe infecção por *Giardia*, além de não ter sido observada qualquer reação cruzada dos anticorpos anti-GSA 65 com outros parasitas eméricos (1, 10).

O GSA 65 tem sido usado como base para imunoensaio (9, 10, 11, 12), sendo possível encontrá-lo em amostras de fezes sem sinais visíveis de cistos ou trofozoítos. (9, 10, 11). Tal antígeno permanece estável no transporte através do trato intestinal do hospedeiro, como também na maioria dos procedimentos de rotina utilizados para coleta e transporte de amostras de fezes para Exame Parasitológico de Fezes (EPF) (1, 11, 12, 13).

UTILIZAÇÃO

O ProSpect Ensaio ImunoEnzimático para *Giardia* em Microplaca é um imunoensaio enzimático destinado à detecção qualitativa do GSA 65 em extratos aquosos de amostras de fezes.

PRINCÍPIO DE AÇÃO DO TESTE

Imunoensaio enzimático (sanduíche de fase sólida), a fim de detectar o GSA 65 (14).

Amostras de fezes diluídas, bem como os Controles Negativo e Positivo são colocados em diferentes cavidades, onde o anticorpo específico para *Giardia*, o GSA 65, está ligado. Se o GSA 65 estiver presente, ele é "capturado" pelo anticorpo ligado. Após incubação por 60 minutos à temperatura ambiente, as cavidades são lavadas com Tampão para Lavagem, a fim de remover os excessos de amostra e controle, além dos anticorpos marcados não-ligados.

Um conjugado enzimático, que é o anticorpo anti-GSA 65 marcado com a enzima peroxidase, é adicionado e as cavidades são incubadas e lavadas. Após a adição do TMB, que é um substrato da enzima peroxidase, as cavidades são incubadas à temperatura ambiente, durante 10 minutos.

Em uma reação positiva, o GSA 65 liga o anticorpo marcado com a enzima ao anticorpo aderido a cavidade e este complexo anticorpo-antígeno-anticorpo marcado desenvolve uma coloração, que pode ser detectada visualmente ou através de Leitor de ELISA.

Em uma reação negativa, como não existem tais antígenos na amostra ou o nível desses antígenos presentes na amostra é insuficiente para ser detectado, não ocorre a formação do complexo anticorpo-antígeno-anticorpo marcado não havendo, portanto, o desenvolvimento de qualquer coloração.

Descrição dos Reagentes, Preparação para o Uso e Condições de Armazenamento Recomendadas

Reagentes (fornecidos):	24 / 96 testes
Microplaca Fixada com anticorpo anti-GSA 65 de coelho	8 cavidades por tira 3 tiras /12 tiras
Conjugado Enzimático Peroxidase de rabanete marcada com anti-GSA monoclonal de camundongo com soro bovino e tимерosal 0,01%	1frasco 5 ml/25 ml
Controle Positivo Material fecal humano com tимерosal 0,02%	1 frasco 4,0 ml
Controle Negativo Material fecal humano com tимерosal 0,02%	1 frasco 4,0 ml
Tampão para Diluição da Amostra Solução tamponada com tимерosal 0,02% e soro de coelho	1 frasco 35 ml/110 ml
Tampão para Lavagem Solução tamponada 10x concentrada com tимерosal 0,1%	1 frasco 50 ml/110 ml
Solução de Substrato TMB em tampão	1 frasco 5 ml/25 ml
Solução Stop Ácido hidrolórico 0,5N (corrosivo)	1 frasco 6 ml

Materiais necessários fornecidos:

Pipetas plásticas de transferência descartáveis	24 / 96 Testes
Suporte para microplaca	25 unid/100 unid
	1 unid

Materiais necessários não fornecidos:

Receptáculo para coleta das amostras de fezes
Dispensador para Tampão de Lavagem

Cronômetro
Água destilada ou deionizada

Materiais opcionais não fornecidos:

Leitor de ELISA (densidade ótica de 450nm)

Swabs

Tubos de ensaio descartáveis de vidro ou plástico

Agitador de tubos (Vortex) com adaptador de placa ou vibrador

Micropipeta para dispensar volumes de até 200 ul

CUIDADOS DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DOS REAGENTES

As datas de fabricação e validade deste kit aparecem no rótulo da embalagem. Não utilizar reagentes cuja data de validade tenha expirado. Armazenar todos os reagentes, inclusive o Tampão para Lavagem concentrado entre 2 a 8 °C. Devolver os reagentes não utilizados ao refrigerador ao completar o teste. A Solução de Substrato é sensível à exposição à luz. Não usar reagente que tenha sido exposto à luz, tendo ocorrido o desenvolvimento de coloração azul. Caso seja reidratada do frasco uma quantidade de Solução de Substrato, além da necessária para a execução do teste, a mesma não poderá ser devolvida ao frasco. Devolver todos as cavidades e tiras não utilizados ao envelope contendo dessecante.

Este kit deverá ser transportado sob refrigeração.

PRECAUÇÕES E CUIDADOS ESPECIAIS

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

O ensaio é um teste qualitativo para a detecção do antígeno específico de *Giardia lamblia*. A intensidade do desenvolvimento de coloração não se correlaciona com o nível de antígeno ou o grau de infecção.

As Amostras, Diluições das Amostras, Controles Positivos, Controles Negativos e Tiras de Microplaca devem ser manuseados utilizando normas padrão de materiais de perigo biológico. Métodos adequados de manuseio e disposição devem ser estabelecidos pelo laboratório.

A Solução de Substrato contém tetrametilbenzidina (TMB). Evitar contato com a pele e mucosas. Se a solução de TMB entrar em contato com essas áreas, lavar imediatamente com água. Observar que a tetrametilbenzidina já foi descrita como análoga a benzidina não carcinogênica (17). **Ver cuidados de armazenamento e transporte.**

O Tampão para Lavagem, o Conjugado Enzimático, o Tampão para Diluição da Amostra e os Controles Positivos e Negativos contém tимерosal que pode irritar a pele, os olhos e as mucosas. Em caso de contato, lave os olhos, pele ou mucosa com quantidade abundante de água.

A Solução Stop é corrosiva e deve ser manuseada com cuidado. Se esta solução entrar em contato com os olhos, pele, mucosa ou roupa, lavar imediatamente a área de contato.

Já foi observado que a contaminação das cavidades com amido ou talco pode catalisar a auto-oxidação da Solução de Substrato. Portanto, a possibilidade desta contaminação deve ser eliminada.

Utilizar pipetas ou ponteiros de pipetas descartáveis separadas para cada amostra. Controle ou Reagente a fim de evitar contaminação cruzada, o que poderia causar resultados errôneos.

Evitar contaminação com íons metálicos ou agentes oxidantes.

NÃO reutilizar as cavidades.

Não utilizar substrato que apresente coloração azul antes de ser adicionado as cavidades.

O equipamento de lavagem, inclusive equipamento automatizado, deve ficar livre de contaminação microbiana, ser calibrado corretamente e mantido de acordo com as instruções do fabricante.

Não misturar ou trocar diferentes lotes de reagentes. Evitar contaminação microbiana de reagentes e não utilize reagente que tenha sinais de contaminação ou precipitação.

Todos os reagentes, com exceção do Concentrado de Tampão para Lavagem são fornecidos em concentrações usuais fixas. A performance do ensaio pode ser afetada, se os reagentes forem modificados ou não forem armazenados nas condições recomendadas.

O Tampão para Lavagem é fornecido numa concentração de 10x, devendo ser diluído antes do uso. **Ver Procedimento de Ensaio - Informações Preliminares.**

Não comer, beber, fumar, armazenar ou preparar alimentos, ou aplicar cosméticos dentro da área de trabalho onde reagentes e amostras estiverem sendo manuseados.

Usar luvas descartáveis quando manusear amostras clínicas ou reagentes. Lavar sempre as mãos após trabalhar com material potencialmente infeccioso.

Pessoas daltônicas ou portadoras de qualquer outra deficiência visual que comprometa a diferenciação de cores talvez não consigam determinar visualmente o resultado do teste, devendo utilizar o Leitor de ELISA para a interpretação dos resultados.

NÃO CONCENTRAR AS AMOSTRAS ANTES QUE SEJAM TESTADAS.

COLETA E PREPARO DAS AMOSTRAS

Coleta das amostras de Fezes

As amostras coletadas para EPF podem ser utilizadas no kit PROSPECT GIARDIA. As amostras de fezes devem ser coletadas em recipientes plásticos limpos e selados. Amostras de fezes frescas, não tratadas, devem ser armazenadas de 2 a 8 °C e testadas dentro de 48 horas. Se as amostras frescas não puderem ser testadas dentro de 48 horas, as mesmas deverão ser congeladas entre -20 e -70 °C. As amostras de fezes tratadas com formalina 10%, ou fixadores MF ou SAF podem ser refrigeradas (2 - 8 °C) ou armazenadas à temperatura ambiente (15 - 30 °C) e deverão ser testadas até 2 meses após a coleta. As amostras de fezes coletadas em Meio de Transporte (ou equivalente) devem ser refrigeradas ou congeladas e testadas até uma semana após a coleta. As amostras de fezes concentradas ou tratadas com fixadores PVA não são adequadas para utilização. Amostras de fezes obtidas de "swabs" retais e fraldas são aceitáveis para utilização no kit PROSPECT GIARDIA.

Preparo das amostras para o Ensaio

Ler o Procedimento de Ensaio antes de iniciar o preparo das amostras.

As amostras podem ser colocadas diretamente nas cavidades ou pré-diluídas em tubos, antes de serem colocadas nas cavidades. Amostras pré-diluídas podem ser mantidas à temperatura ambiente, durante 8 horas ou entre 2 a 8 °C, durante 48 horas antes do teste.

Escolher um dos métodos a seguir:

Quadro A - Para diluição em cavidades

Quadro B - Para pré-diluição em tubos

A – Diluição em Cavidades

1. Amostras Sólidas Não Preservadas

Rotular um tubo para cada amostra. Acrescentar 0,4 ml de Tampão para Diluição da Amostra (TDA) para cada tubo. Revestir 1 "swab" com a amostra e misturar vigorosamente em TDA. Retirar o máximo possível de fluido, descartando o "swab". Colocar uma pipeta de transferência dentro do tubo.

2. Amostras Preservadas ou Amostras Aquosas Não Preservadas

Misturar, agitando os recipientes de coleta da amostra. Não é necessário qualquer outro tipo de preparação adicional.

3. Adicionar 4 gotas de Controle Negativo a cavidade A1.

Adicionar 4 gotas de Controle Positivo a cavidade B1.

4. Adicionar 100ul de TDA a cada cavidade da amostra.

Utilizando pipetas de transferência, adicionar 1 gota de cada amostra a uma cavidade.

Observação: Colocar a abertura da pipeta de transferência dentro das cavidades para evitar espirrar na cavidades adjacentes. **Seguir para o Procedimento do Teste (Item 3).**

B – Diluição em tubos

1. Amostras Sólidas Não Preservadas:

Rotular um tubo para cada amostra.

Acrescentar 1 ml de TDA para cada tubo.

Revestir 1 "swab" com a amostra e agitar vigorosamente no TDA.

Retirar o máximo possível de fluido, descartando o "swab".

Colocar uma pipeta de transferência em cada tubo.

2. Amostras não Preservadas Aquosas ou Preservadas:

Rotular 1 tubo para cada amostra.

Colocar 1 ml de TDA em cada tubo.

Misturar as amostras, agitando os recipientes de coleta das amostras. Utilizando pipetas de transferência, pipetar até 0,3 ml (terceira marca a partir da ponta da pipeta).

Colocar a amostra no TDA.

Misturar com a pipeta, puxando e soltando uma vez.

Deixar as pipetas de transferência nos tubos.

Amostras diluídas podem ser guardadas durante 8 horas em temperaturas ambiente ou 48 horas de 2 a 8°C.

3. Adicionar 4 gotas do Controle Negativo na cavidade A1.

Colocar 4 gotas do Controle Positivo na cavidade B1.

Utilizando pipetas de transferência, adicionar 0,2 ml (segunda marca a partir da ponta da pipeta) de cada amostra, a cada cavidade.

Observação: Colocar a abertura da pipetas de transferência para dentro das cavidades, a fim de evitar espirrar nas cavidades adjacentes. **Seguir para o Procedimento do Teste (Item 3).**

PROCEDIMENTO DO TESTE

Informações Preliminares - Ler cuidadosamente e seguir as instruções desta bula.

Deixar que todos os reagentes e amostras cheguem à temperatura ambiente (15 - 30°C) antes de iniciar o ensaio. Devolver os reagentes não utilizados ao refrigerador após o término do teste.

O Tampão para Lavagem é fornecido em uma concentração de 10x. Diluir o Concentrado de Tampão para Lavagem, acrescentando 1 parte do concentrado para 9 partes de água fresca destilada ou deionizada. O Tampão para Lavagem diluído fica estável durante 1 mês, quando armazenado de 2 a 8°C.

Adicionar todos os reagentes às cavidades do teste na mesma ordem durante todo o procedimento. Para evitar contaminação, não tocar o fluido das cavidades com os bicos dos frascos.

Quando usar qualquer um dos frascos conta-gotas de reagentes, segurá-lo ao bocal a aproximadamente 5mm da cavidade e apertá-lo levemente, cuidando para que as gotas caiam soltas dentro das cavidades sem tocar as bordas. Evitar contaminação do bocal de qualquer um dos frascos.

Cronometrar cada período de descanso com precisão. Iniciar a contagem após adicionar o reagente a última cavidade em cada microplaca que está sendo testada. Qualquer que seja a forma escolhida de adição de reagentes às cavidades utilizá-la durante todo o procedimento do teste.

Todos os reagentes, com exceção do Tampão para Lavagem, são fornecidos prontos para a utilização, em frascos conta-gotas. Os Controles Positivos e Negativos podem ser gotejados nos frascos diretamente nas cavidades da microplaca ou, alternativamente, 200 ul de cada controle podem ser pipetados do frasco e adicionados diretamente nas da cavidades individuais da microplaca.

O Conjugado Enzimático, o Substrato de Cor e a Solução Stop podem ser colocados diretamente dos frascos ou verificados para utilização em pipetas multicanais. Se um excesso de reagente for retirado do frasco original, o mesmo deverá ser descartado. Não devolver o excesso para o frasco.

PROCEDIMENTO:

Antes de iniciar o Procedimento de Ensaio, ler Preparo das Amostras para o Ensaio e Informações Preliminares.

1. Abrir o envelope de alumínio, retirar o número suficiente de cavidades para a realização do teste e colocá-los firmemente no suporte de tiras. Reservar uma da cavidade para o Controle Positivo e outro para o Controle Negativo. SELAR NOVAMENTE O ENVELOPE A FIM DE EXCLUIR UMIDADE E, EM SEGUIDA, DEVOLVÊ-LO AO REFRIGERADOR.
2. As amostras podem ser colocadas diretamente nas cavidades ou pré-diluídas em tubos, antes de serem colocadas nas cavidades. **Ver Preparo das amostras para o Ensaio.**
3. Cobrir a placa e incubar a temperatura ambiente durante 60 minutos. Iniciar a cronometragem após a adição da última amostra.
4. Verter ou aspirar os conteúdos das cavidades para um recipiente com aléido fresco ou desinfetante à base de cloro, a fim de descartar os resíduos. Lavar completamente, enchendo cada cavidade com Tampão para Lavagem (± 350 - 400 ul/cavidade). Verter ou aspirar todo o fluido das cavidades após cada lavagem.
5. Lavar um total de 3 vezes. Após a última lavagem verter todo o conteúdo das cavidades e bater fortemente a microplaca invertida contra um papel toalha. Remover a maior quantidade possível de Tampão para Lavagem sem, contudo, permitir que as das cavidades sequem em momento algum.
6. Acrescentar 4 gotas (200 ul) do Conjugado Enzimático (tampa azul) em cada cavidade.
7. Incubar a microplaca à temperatura ambiente durante **30 minutos**.
8. Decantar e lavar bem cada cavidade **5 vezes**, conforme realizado no passo 4.
9. Acrescentar 4 gotas (200 ul) de Solução de Substrato a cada cavidade.
10. Incubar a microplaca à temperatura ambiente durante **10 minutos**.
11. Acrescentar 1 gota (50 ul) da Solução Stop a cada cavidade. Agitar levemente as cavidades ou utilizar um vortex de maneira a assegurar que o conteúdo das cavidades esteja completamente homogeneizado antes da leitura dos resultados. Fazer a leitura das reações até 10 minutos após a adição da Solução Stop. Ler visualmente ou em Leitor de ELISA (a 450 nm).

RESULTADOS

VISUAL:

Para a interpretação de cores, consultar o Cartão de Referência de Coloração do Ensaio.

1. Ler o Controle Negativo. A reação deve ser incolor. Se for constatada a cor amarela igual ou superior a 1+ do Cartão de Referência de Coloração do Ensaio, o teste deverá ser repetido com atenção ao procedimento de lavagem.
2. Ler o Controle Positivo. A intensidade da cor no Controle Positivo deve ser igual ou superior à reação 2+ do Cartão de Referência de Coloração do Ensaio.
3. Ler os resultados do teste, comparando com as cores de reação do Cartão de Referência de Coloração do Ensaio.

Positivo: cor amarela de intensidade de 1+, no mínimo

Negativo: incolor

4. Interpretação de resultados visuais:

Positivo: Se a cor amarela de intensidade mínima 1+ aparecer na cavidade teste, a amostra contém GSA 65 e o teste é positivo.

Observação: Testes com cor amarela fraca (inferior a 1+) deverão ser repetidos.

Negativo: Uma reação incolor é um resultado negativo e indica que o GSA 65 não está presente ou que o GSA 65 existe a níveis indetectáveis na amostra.

LEITOR DE ELISA:

1. Assegurar que os fundos das cavidades estejam limpos antes da leitura, verificando que nenhum corpo estranho esteja presente nas cavidades. Colocar o espectrofotômetro (leitor de microplaca) para leitura a 450 nm.
 2. Fazer a leitura da densidade ótica (D.O.) para o Controle Negativo. Para um teste válido, a D.O. do Controle Negativo deve ser de 0,100 ou inferior. Se a D.O. for maior que 0,100, os resultados são inválidos e o teste deverá ser repetido com atenção cuidadosa para o procedimento de lavagem.
 3. Subtrair a D.O. da cavidade de Controle Negativo das leituras de D.O. da cavidade de Controle Positivo e das cavidades teste antes de interpretar os resultados.
- Observação: Os leitores podem ser zerados na cavidade de Controle Negativo para que a D.O. da cavidade de Controle Negativo seja subtraída automaticamente das demais leituras. Se o leitor não tiver esta capacidade, zerar ao ar e subtrair a D.O. da cavidade de Controle Negativo das leituras de D.O. da cavidade de Controle Positivo e de cada uma das cavidades de teste antes de interpretar os resultados.
4. A D.O. para o Controle Positivo deverá ser 0,300 ou maior, após a subtração da D.O. do Controle Negativo. Se a D.O. for inferior a 0,300, o teste deverá ser repetido.

5. Ler os resultados do teste:

Positivo: D.O. \geq 0,050 do valor zerado (i.e., após a subtração da D.O. do Controle Negativo)

Negativo: D.O. < 0,050 do valor zerado (i.e., após a subtração da D.O. do Controle Negativo)

6. Interpretação dos resultados do Leitor de ELISA:

Positivo: Se a leitura da D.O. do valor zerado for igual ou superior a 0,050 na cavidade teste, a amostra contém GSA 65 e o teste é positivo.

Negativo: Uma leitura da D.O. do valor zerado inferior a 0,050 é um resultado negativo e indica que GSA 65 não está presente ou que o GSA 65 existe a níveis indetectáveis na amostra.

Limitações do Ensaio

Apenas um ensaio diagnóstico não deve ser utilizado como base única para se chegar a uma conclusão clínica. Os resultados devem ser fundamentados na correlação entre os resultados do ensaio diagnóstico, os sintomas e o quadro clínico geral do paciente. Quando resultados negativos forem obtidos para pacientes sintomáticos, novas amostras deverão ser coletadas e testadas.

CONTROLE DE QUALIDADE

Pelo menos um Controle Positivo e um Negativo deve ser incluído a cada vez que o teste for realizado. Os Controles Positivo e Negativo servem para avaliar tanto a qualidade dos reagentes quanto o procedimento de ensaio.

VALORES EPIDEMIOLÓGICOS

A *Giardia lamblia* tem sido considerada como agente causador de várias epidemias (4,5) e sua presença endêmica nos Estados Unidos é bem determinada. A prevalência deste parasita em adultos é estimada em 4-7% (8), contudo, as mais altas taxas de prevalência foram registradas em crianças (1, 15) e em homossexuais do sexo masculino (6,7). Os sintomas agudos da Giardíase podem incluir diarreia, má absorção, cólica abdominal, anorexia, náusea, perda de peso, fadiga, anemia e fraqueza generalizada, que duram de várias semanas a vários meses (16). Infecções crônicas podem também ocorrer sem uma fase aguda e são frequentemente associadas a falha no tratamento, podendo resultar em sintomas recorrentes. A infecção por *Giardia* pode ser assintomática.(2)

CARACTERÍSTICAS DE PERFORMANCE

Sensibilidade e Especificidade

Estudos clínicos foram conduzidos a fim de avaliar a performance do PROSPECT GIARDIA KIT. As amostras foram obtidas de um grande laboratório de referência que realizava testes de EPF. Um total de 248 amostras não conservadas foram testadas. Para ambos os testes, 101 amostras foram positivas para *Giardia* pelo EPF e 147 negativas. Quarenta e sete das amostras negativas para *Giardia* continham parasitas que não *Giardia*, pelo EPF. Todas as amostras positivas para o Exame Parasitológico das Fezes (EPF) foram positivas no ensaio em microplaca, o mesmo ocorrendo com as amostras negativas. A performance do PROSPECT GIARDIA KIT nesse estudo é apresentada abaixo:

	+	-	
ProSpect	101	0	
Giardia	0	147	248
	101	147	

Sensibilidade 101/101 = 100% (95-100%)
Especificidade 147/147 = 100% (98-100%)

Os números entre parênteses são intervalos de confiança de 95%.

Foi realizado um teste com 562 amostras coletadas prospectando-se lesões pelo EPF. As amostras foram coletadas do laboratório de referência de um grande hospital metropolitano (360 amostras não preservadas) e de um laboratório de saúde pública (202 amostras conservadas em formalina), ambos nos Estados Unidos. Um resultado foi positivo para o EPF/negativo pelo EIE e 10 amostras foram negativas para o EPF e positivas para o EIE. Uma delas foi positiva para GSA 65 por inibição específica. A performance do PROSPECT GIARDIA KIT neste teste é apresentada a seguir:

	+	-	
ProSpect	42	9	
Giardia	1	510	562
	43	519	

Sensibilidade 42/43 = 98% (88-100%)
Especificidade 510/519 = 98% (97-99%)

Os números entre parênteses são intervalos de confiança de 95%

Sensibilidade Analítica

PROSPECT GIARDIA KIT detecta aproximadamente 3,9 nanogramas/ml de GSA 65.

Reação Cruzada

PROSPECT GIARDIA KIT foi testado com amostras de fezes positivas para diversos parasitos intestinais. Não foi observada nenhuma reação cruzada com quaisquer dos agentes contagiosos abaixo:

Ascaris lumbricoides (5)
Blastocystis hominis (6)
Iscospora belli (5)
Rotavirus (11)

Cryptosporidium parvum(10)
Dientamoeba fragilis(10)
Endolimax nana(6)
Entamoeba coli(13)
Hymenolepis nana(2)
Iodamoeba butschlii(9)
Strongyloides stercoralis(1)
Trichuris trichiura (2)

Os números entre parênteses indicam a quantidade de amostras testadas.

Reprodutibilidade

O coeficiente de variação inter-ensaio (CV) foi avaliado com 5 amostras positivas e 5 negativas testadas, no mínimo 10 vezes, em 3 ensaios separados. Para o procedimento de diluição em tubo, o CV médio das amostras negativas foi de 3,02% (variando de 0,93% a 3,90%) e o CV médio para as amostras positivas foi de 4,65% (variando de 1,74% a 10,72%). Para o procedimento de diluição em cavidades, o CV médio das amostras negativas foi de 7,66% (variando de 4,22% a 16,19%) e o CV médio para as amostras positivas foi de 7,76% (variando de 4,12% a 11,26%).

O CV intra-ensaio foi avaliado com 5 amostras positivas e 5 negativas, testadas pelo menos 10 vezes em apenas um ensaio. Para o procedimento de diluição em tubo, o CV médio das amostras negativas foi de 4,47% (variando de 3,30% a 5,38%) e o CV médio para as amostras positivas foi de 5,61% (variando de 2,53% a 10,12%). Para o procedimento de diluição em cavidades, o CV médio para as amostras negativas foi de 4,51% (variando de 2,73% a 5,36%) e o CV médio para as amostras positivas foi de 9,59% (variando de 4,78% a 13,8%).

BIBLIOGRAFIA

1. Addiss, D.G., 1991. "Evaluation of a commercially available Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay for *Giardia lamblia* antigen in stool." J Clin Micro **29**(6):1137-1142.
2. Black, R.E. et al., 1977. "Giardiasis in day care centers: evidence of person to person transmission." Pediatrics **60**:485-491.
3. Center for Disease Control, Atlanta, GA, 1978. "Intestinal parasite surveillance United States, 1976." Morb Mort Week Rep **27**:167-168.
4. Graun, G.F., 1979. "Waterborne giardiasis in the United States: a review." J Publ Health **69**:817-819.
5. Craun, G.F., 1986. "Waterborne giardiasis in the United States 1965-84." Lancet **1**:513-514.
6. Kean, B.H. et al., 1979. "Epidemic of amoebiasis and giardiasis in a biased population". Brit J Ven Dis **55**:375-378.
7. Meyers, J.D. et al., 1977. "*Giardia lamblia* infection in homosexual men." Brit J Ven Dis **53**:54-55.
8. Rendtorff, R.C., 1979. "The experimental transmission of *Giardia lamblia* among volunteer subjects in Waterborne Transmission of Giardiasis" (Jakubowski, W., and Hoff, J.C., eds.), pp. 64-81. EPA, U.S., Cincinnati, OH.
9. Rosoff, J.D., and Stibbs, H.H., 1986. "Isolation and identification of a *Giardia lamblia*-specific stool antigen (GSA 65) useful in coprodiagnosis of giardiasis." J Clin Micro **23**(5):905-910.
10. Rosoff, J.D., and Stibbs, H.H., 1986. "Physical and chemical characterization of a *Giardia lamblia*-specific antigen useful in the coprodiagnosis of giardiasis." J Clin Micro **24**(6):1079-1083.
11. Rosoff, 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 Micro **23**(5):1997-2002.
12. Schieven, B.C., and Hussain, Z., 1990. "Evaluation of an enzyme-immuno-assay test kit for diagnosing infections with *Giardia lamblia*." Serodiag and Immunother **4**:109-113.
13. Somnad, S., Bahrami, L., O'Hanley, P., 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.
14. Tijssen, P., "Practice and Theory of Enzyme Immunoassays." Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, R.H., Burdon and P.H., van Knippenberg eds., Elsevier, N.Y., 1985, pp. 14-16.
15. Visvesvara, G.S., 1982. "Giardiasis in Children." J. Pediatric Gastroenterol Nutr. **1**:463-466.
16. Wolfe, M.S., 1979. "Managing the patient with giardiasis: clinical, diagnostic and therapeutic aspects." in: Waterborne Transmission of Giardiasis (Jakubowski, W., and Hoff, J.C., eds.), pp. 39-52. EPA, U.S., Cincinnati, OH.
17. Holland, V.R., 1974. "Sater Substitute for Benzidine in Detection of Blood." Tetrahedron **30**:3299-3302.

EDIÇÃO INSTRUÇÃO DE USO: MARÇO/2003