

RIDASCREEN® Giardia

No do artigo: C1101



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Alemanha
Tel.: +49 (0) 61 51 - 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 - 81 02-20



1. Uso previsto

Para uso no diagnóstico *in vitro*. O RIDASCREEN® Giardia é um ensaio imunoenzimático para a identificação qualitativa do *Giardia lamblia* em amostras de fezes humanas.

2. Resumo e explicação do teste

Giardia lamblia são parasitas flagelados que causam infecções no intestino delgado de humanos após a absorção oral de cistos de giárdia. Como é encontrado no mundo todo, o patógeno *Giardia lamblia* é uma causa importante de diarreia crônica, em especial nos casos médicos relacionados a viagens. A infecção ocorre pela ingestão de cistos em água ou alimentos contaminados. Nos EUA, o patógeno *Giardia lamblia* é a causa mais frequente de doença com diarreia em conexão com a ingestão de água. Em países subdesenvolvidos, a infecção por giárdia é uma das causas mais frequentes de doenças em crianças com idade inferior a 10 anos, com uma prevalência de 15 - 20%. A giardiase (lamblíasis) ocorre como diarreia aguda ou crônica, em que pessoas assintomáticas podem também excretar os cistos do parasita. O período de incubação varia de 3 a 42 dias.

A infecção aguda apresenta os seguintes sintomas: ocorrência súbita de diarreia aquosa (fezes frequentes de cor amarela, consistência espumosa e cheiro desagradável, juntamente com flatulência), perda de apetite, náuseas, letargia e perda de peso.

No passado, o método mais utilizado para diagnosticar lamblíasis era o exame de amostras de fezes ao microscópio para a detecção dos cistos, e isso requer a disponibilidade de profissionais experientes. Também é necessário realizar estes testes em uma sequência de várias amostras de fezes no decorrer de um longo período de tempo, pois a frequência de excreção do cisto pode variar muito.

3. Princípio do teste

O teste de RIDASCREEN® Giárdia emprega anticorpos específicos em um método do tipo sanduíche. Anticorpos específicos da giárdia para os antígenos específicos dos cistos e trofozoítos da *Giardia lamblia* ficam ligados à superfície dos poços da placa de micropoços.

Usa-se uma pipeta para posicionar uma suspensão da amostra de fezes para ser examinada, bem como as amostras de controle no poço da placa de micropoços, juntamente com anticorpos contra giárdia biotinados (Conjugado 1) para incubação à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Depois de uma etapa de lavagem, o conjugado de estreptavidina poli-peroxidase (Conjugado 2) é adicionado e incubado novamente à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Se há antígenos contra *Giardia lamblia* em uma amostra, o anticorpo imobilizado, o antígeno de *Giardia lamblia* e o anticorpo conjugado formam um complexo de sanduíche. Outra etapa de lavagem remove o conjugado de estreptavidina poli-peroxidase não ligado. Em amostras positivas, a adição de um substrato muda a enzima ligada, de uma solução incolor para uma

solução azul. A adição de um reagente de parada muda a cor de azul para amarelo. A extinção é proporcional à concentração de antígenos de *Giardia lamblia* encontrados na amostra.

4. Reagentes fornecidos

Os reagentes do kit são suficientes para 96 determinações.

Plate	96	Placa de micropoços, 12 tiras de micropoços (que podem ser divididas) no suporte para tiras; revestida com anticorpos monoclonais específicos para os antígenos específicos da <i>Giardia lamblia</i> .
Diluent 1	100 ml	Tampão de diluição da amostra, solução de NaCl tamponada com proteína, pronto para usar, cor azul.
Wash	100 ml	Tampão de lavagem, solução de NaCl tamponada com fosfato (concentrada 10 vezes); contém 0,1 % de timerosal.
Control +	2 ml	Antígeno de <i>Giardia lamblia</i> inativado; pronto para usar.
Control -	2 ml	Controle negativo (tampão de diluição da amostra); pronto para usar.
Conjugate 1	13 ml	Anticorpos monoclonais para antígenos específicos da <i>Giardia lamblia</i> conjugados à biotina em uma solução de proteína estabilizada; prontos para usar, cor vermelha.
Conjugate 2	13 ml	Conjugado de estreptavidina poli-peroxidase em solução de proteína estabilizada; pronto para usar; cor laranja.
Substrate	13 ml	Peróxido de hidrogênio/TMB; pronto para usar.
Stop	12 ml	Reagente de parada; 1 N de ácido sulfúrico; pronto para usar.

5. Reagentes e sua armazenagem

Todos os reagentes devem ser armazenados a 2 - 8 °C e podem ser usados até a data impressa na etiqueta. Armazenado a 2 - 8 °C, o tampão de lavagem diluído pode ser usado por, no máximo, 4 semanas. Deve-se evitar a contaminação microbiana. Após a data de expiração, a garantia da qualidade já não é válida.

A bolsa de alumínio deve ser aberta com tesoura de forma que a vedação de grampo não seja rasgada. As tiras de micropoços que não forem necessárias devem ser recolocadas em uma bolsa de alumínio imediatamente e armazenadas a 2 - 8 °C.

O substrato incolor também deve ser protegido contra a luz solar direta, para impedir que se decomponha ou fique azul devido à auto-oxidação. Depois que o substrato fica azul, ele não pode mais ser utilizado.

6. Reagentes adicionais necessários – e equipamento necessário

6.1. Reagentes fornecidos

- Água destilada ou deionizada

6.2. Equipamento

- Tubos de ensaio
- Pipetas descartáveis (Artigo no: Z0001)
- Misturador de vórtice (opcional, consulte 9.3.)
- Micropipeta para volumes de 50 - 100 µl e 1 ml
- Cilindro de medição (1.000 ml)
- Cronômetro
- Dispositivo de lavagem para placas de micropoços ou pipetas multicanal (300 µl)
- Fotômetro para placas de micropoços (450 nm e filtro de referência de 620 - 650 nm)
- Papel filtro (toalhas para laboratório)
- Contêiner de resíduos com uma solução de 0,5% de hipoclorito

7. Precauções de uso

Apenas para *uso em diagnóstico in vitro*.

Este ensaio só deve ser realizado por profissionais de laboratório treinados. As diretrizes para trabalhar em laboratórios médicos devem ser seguidas. Sempre siga rigorosamente as instruções para os usuários referentes a este teste.

As amostras ou reagentes não devem ser pipetados com a boca, e o contato com a pele ferida ou com membranas mucosas deve ser evitado. Use equipamento de proteção pessoal (luvas adequadas, avental, óculos de segurança) ao manusear as amostras e lave as mãos depois de concluir o teste. Não fume, coma ou beba nas áreas onde amostras ou reagentes estão sendo processados.

Para ver mais detalhes, consulte as Folhas de Dados de Segurança de Materiais (MSDS) em www.r-biopharm.com.

O kit inclui um controle positivo que contém o antígeno de giárdia inativado. Ele deve ser tratado como material potencialmente infeccioso e manuseado de acordo com as normas de segurança nacionais, assim como as amostras do paciente.

O tampão de lavagem contém 0,1% de timerosal como conservante. Não se deve permitir que essa substância entre em contato com a pele ou membranas mucosas.

Garanta o descarte adequado e responsável de todos os reagentes e materiais após o uso. Para o descarte, siga os regulamentos nacionais.

8. Coleta e armazenagem de amostras

Até o momento da utilização, armazene o material de teste a 2 - 8 °C. Se não for possível usar o material para um teste dentro de três dias, recomendamos a armazenagem a -20 °C ou menos. Evite congelar e descongelar a amostra repetidamente.

As amostras de fezes e esfregaços retais não devem ser coletadas em contêineres de transporte contendo meios conservantes, soros animais, íons metálicos, agentes oxidantes ou detergentes, já que podem interferir no RIDASCREEN® Giardia ELISA.

Se esfregaços retais forem utilizados, certifique-se de que o volume de material fecal seja suficiente (aprox. 100 mg) para o teste.

O rastreio do contato deve incluir amostras de fezes tomadas de pessoas de contato que não apresentam sintomas clínicos, para identificar portadores assintomáticos.

9. Procedimentos do teste

9.1. Informações gerais

Todos os reagentes e o micropoço **Plate** devem atingir a temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes do uso. As tiras de micropoços não devem ser removidas da bolsa de alumínio até atingir a temperatura ambiente. Os reagentes devem ser misturados totalmente imediatamente antes do uso. Depois do uso, as tiras de micropoços (colocadas em bolsas vedadas) e os reagentes devem ser armazenados a 2 - 8 °C. Depois de usadas, as tiras de micropoços não podem ser usadas novamente. Os reagentes e as tiras de micropoços não devem ser usados se a embalagem estiver danificada ou os frascos estiverem vazando.

Para evitar a contaminação cruzada, deve-se impedir que as amostras entrem em contato com os componentes do kit.

O teste não deve ser realizado sob luz solar direta. Recomendamos a cobertura da tira de micropoços ou a vedação com plástico para evitar perdas por evaporação.

9.2. Preparação do tampão de lavagem

Misture 1 parte de concentrado de tampão de lavagem **Wash** com 9 partes de água destilada. Quaisquer cristais presentes no concentrado deverão ser dissolvidos previamente aquecendo em banho-maria a 37 °C.

9.3 Preparação das amostras

Encha um tubo de ensaio com 1 ml de tampão de diluição da amostra RIDASCREEN® **Diluent | 1**. Use uma pipeta descartável (artigo no Z0001) para aspirar uma amostra fina de fezes (aprox. 100 µl) até um ponto logo acima da segunda marcação e adicione isto ao tampão no tubo de ensaio para fazer uma suspensão. Para suspender amostras de fezes sólidas, utilize uma quantidade equivalente (aprox. 50 - 100 mg) da amostra, manuseando-a com uma espátula ou ansa de inoculação descartável.

Homogeneíze a suspensão de fezes por sucção e ejeção com uma pipeta ou, como alternativa, misture com um misturador Vortex. Deixe a suspensão descansar por um breve período

(10 minutos) para que as partículas grossas de fezes assentem; esse sobrenadante clarificado da suspensão de fezes pode ser usado diretamente no teste. Caso o procedimento do teste seja realizado em um sistema ELISA automatizado, o sobrenadante deve obrigatoriamente estar livre de partículas. Nesse caso, é recomendável centrifugar a amostra a 2.500 G durante 5 minutos.

Observação:

Amostras de fezes diluídas em **Diluent | 1** podem ser testadas em todos os RIDASCREEN® ELISA para os quais o **Diluent | 1** é utilizado.

9.4. Primeira incubação

Depois de encher um número suficiente de poços no suporte para tiras, use uma pipeta para adicionar 100 µl do positivo **Control | +**, do negativo **Control | -**, ou da suspensão das fezes aos poços. Em seguida, adicione 100 µl do anticorpo conjugado à biotina **Conjugate | 1** e misture (batendo levemente no lado da placa); depois, incube por 30 minutos à temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.5. Lavagem

Lavar cuidadosamente é importante para a obtenção de resultados corretos. Portanto, siga rigorosamente as instruções. A substância incubada nos poços deve ser esvaziada em um contêiner de resíduos e descartada de acordo com os regulamentos locais. Depois disso, deite a placa em um papel absorvente para remover a umidade residual. Em seguida, lave a placa cinco vezes usando 300 µl de tampão de lavagem em cada vez. Certifique-se de que os poços sejam totalmente esvaziados, deitando-os, após cada lavagem, em uma parte do papel absorvente que ainda esteja seca e não tenha sido usada.

Se você usa uma lavadora de microplacas ou um ELISA totalmente automatizado, certifique-se de que a máquina esteja ajustada corretamente; se necessário, solicite os ajustes do fabricante. Os aparelhos fornecidos pela R-Biopharm já estão programados com ajustes e protocolos de controle validados. Para evitar o entupimento das agulhas de lavagem, entregue somente suspensões de fezes livres de partícula (consulte o Item 9.3., Preparação das amostras). Além disso, certifique-se de que todo o líquido seja aspirado durante cada etapa de lavagem.

9.6. Segunda incubação

Use uma pipeta para colocar 100 µl de conjugado de estreptavidina poli-peroxidase **Conjugate | 2** nos poços e, em seguida, incube durante 15 minutos à temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.7. Lavagem

Lave conforme o descrito no Item 9.5.

9.8. Terceira incubação

Encha todos os poços com 100 µl de substrato **Substrate**. Incube a placa por 15 minutos no escuro à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Em seguida, coloque 50 µl de reagente de parada **Stop** em todos os poços a fim de parar a reação. Depois de misturar cuidadosamente ao bater ligeiramente no lado da placa, meça a extinção a 450 nm (opcional: 450/620 nm). Ajuste o ponto zero no ar, ou seja, sem a placa de micropoços.

Observação:

Amostras altamente positivas de pacientes podem provocar precipitados de cor preta do substrato.

10. Controle de qualidade - indicações da expiração do reagente

Para fins de controle de qualidade, controles positivos e negativos devem ser usados cada vez que o teste é realizado, para garantir que os reagentes estejam estáveis e que o teste seja realizado corretamente. O teste foi realizado corretamente se a taxa de extinção (O. D.) do controle negativo é inferior a 0,2 a 450 nm (inferior a 0,160 a 450/620 nm) e o valor medido para o controle positivo é maior que 0,8 a 450 nm ou a 450/620 nm. Um valor superior a 0,2 (0,160) para o controle negativo pode indicar que a lavagem foi insuficiente. O desvio os valores exigidos, bem como uma cor turva ou azul do substrato incolor antes que seja colocado nos poços pode indicar que os reagentes expiraram. Se os valores estipulados não forem obtidos, verifique os pontos a seguir antes de repetir o teste:

- Data de expiração dos reagentes usados
- Funcionalidade do equipamento que está sendo usado (por exemplo: calibragem)
- Procedimento de teste correto
- Inspeção visual dos componentes do kit à procura de contaminação ou vazamentos.
- A solução de substrato que se torna azulada não deve ser usada.

Se mesmo assim as condições não forem preenchidas após a repetição do teste, consulte o fabricante ou o distribuidor local da R-Biopharm.

11. Avaliação e interpretação

11.1. Cálculo do corte

Para estabelecer o corte, 0,15 unidade de extinção é adicionada à extinção medida para o controle negativo.

$$\text{Corte} = \text{extinção para o controle negativo} + 0,15$$

11.2. Resultados do teste

A avaliação da amostra é **positiva** se a taxa de extinção é mais do que 10% superior ao valor de corte calculado.

A avaliação da amostra é **marginal** se a taxa de extinção varia entre 10% menor e 10% maior que o valor de corte. Se a repetição do exame com uma nova amostra de fezes fica novamente na zona cinza, a avaliação da amostra é negativa.

Amostras com extinções mais de 10% abaixo do corte calculado devem ser consideradas **negativas**.

12. Limitações do método

O teste RIDASCREEN® Giárdia identifica os antígenos específicos do *Giardia lamblia* em amostras de fezes. Não é possível associar o nível determinado de extinção à ocorrência ou gravidade dos sintomas clínicos. **Os resultados obtidos sempre devem ser interpretados em conjunto com o quadro clínico.**

Um resultado **positivo** não descarta a presença de outros patógenos infecciosos.

Um resultado **negativo** não descarta a possibilidade de giardíase. Um resultado desse tipo pode ocorrer devido à excreção intermitente do parasita ou à quantidade muito pequena de antígeno na amostra. Se o histórico do paciente respalda a suspeita de infecção por *Giardia lamblia*, deve-se repetir o exame com outra amostra de fezes.

Um resultado **marginal** pode ser causado pela distribuição não homogênea dos parasitas na amostra de fezes. Nesse caso, o exame deve ser repetido com uma segunda suspensão da mesma amostra ou outra amostra de fezes deve ser solicitada.

13. Características de desempenho

13.1 Estudo de comparação clínica

Uma investigação clínica na Grã Bretanha avaliou o teste RIDASCREEN® Giárdia com um total de 240 amostras de fezes (estudos prospectivos e retrospectivos cegos). Houve uma comparação com métodos britânicos estabelecidos de microscopia para giárdia (emulsão fisiológica e mancha de iodo) e um PCR de diferenciação em tempo real. Os resultados desse estudo são resumidos na Tabela 1.

Tabela 1: Comparação do RIDASCREEN® Giárdia ELISA por microscopia e PCR em tempo real

		Microscopia		PCR em tempo real [#]	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
RIDASCREEN® Giárdia	Positivo	11	15	26	0
	Negativo	2	212	1	211

Sensibilidade (CI): 85 % (55 - 98)

96 % (81 - 100)

Especificidade (CI): 93 % (89 - 96)

100 % (98 - 100)

#Quantidade insuficiente de material em duas amostras de fezes

CI: Intervalo de confiança em %

13.2 Sensibilidade analítica

Para determinar a sensibilidade analítica do RIDASCREEN® Giardia ELISA, foi produzida uma série de diluição linear a partir de uma amostra com uma quantidade conhecida de cistos de giárdia e, em seguida, medida em triplicado. O limite de detecção (LoD) é a última concentração a ser avaliada como positiva em todas as repetições. Os resultados dessas medições são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados de sensibilidade analítica do RIDASCREEN® Giardia ELISA

Cistos/Reação	MV [OD 450/620]	Resultados
2,5 x 10 ⁵	1,793	Positivo
1,25 x 10 ⁵	0,968	Positivo
6,25 x 10 ⁴	0,460	Positivo
3,12 x 10 ⁴	0,201	Positivo
1,56 x 10 ⁴	0,077	Negativo
7812	0,024	Negativo
3906	0,008	Negativo

13.3. Precisão

Para determinar a reprodutibilidade intraensaio, 40 réplicas dessas referências foram testadas, representando a faixa completa de medição, de negativo a altamente positivo. Os valores médios e os coeficientes de variação (VC) de três lotes dos kits foram determinados. Para a reprodutibilidade intraensaio, foram testadas referências de dez dias úteis diferentes em duplicadas, com duas execuções por dia. As medições foram determinadas por três técnicos e se referem a três lotes de kits. A reprodutibilidade entre os lotes foi determinada para todos os três lotes dos kits. Os resultados desse estudo são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3: Reprodutibilidade/precisão do RIDASCREEN® Giardia ELISA

Referências		Intraensaio			Entre ensaios			Entre lotes
		Lote de kits 1	Lote de kits 2	Lote de kits 3	Lote de kits 1	Lote de kits 2	Lote de kits 3	Lote de kits 1-3
1	MV [OD 450/620]	2,667	2,314	2,216	2,568	2,765	2,763	2,699
	VC (%)	5,67%	6,37%	12,03%	13,59%	11,04%	9,25%	11,85%
2	MV [OD 450/620]	2,115	1,750	1,563	1,894	2,085	2,043	2,008
	VC (%)	5,02%	8,17%	7,35%	15,08%	15,52%	12,89%	15,07%
3	MV [OD 450/620]	1,295	0,909	1,170	1,372	1,514	1,541	1,476
	VC (%)	9,52%	9,42%	20,29%	18,51%	12,92%	11,45%	15,30%
4	MV [OD 450/620]	0,829	0,683	0,817	0,880	0,956	0,983	0,940
	VC (%)	7,43%	10,59%	7,07%	16,11%	13,29%	11,95%	14,59%
5	MV [OD 450/620]	0,505	0,404	0,481	0,558	0,618	0,623	0,600
	VC (%)	8,92%	13,43%	12,97%	21,12%	18,94%	20,21%	20,49%
6	MV [OD 450/620]	0,269	0,167	0,291	0,311	0,350	0,349	0,336
	VC (%)	9,53%	16,41%	10,48%	22,22%	15,16%	21,00%	20,21%

13.4. Reatividade cruzada

Diversos micro-organismos patogênicos do trato intestinal foram examinados com o RIDASCREEN® Giárdia e não apresentaram reatividade cruzada. Esses estudos foram realizados com suspensões não diluídas de vírus ou bactérias que comprovadamente tinham concentrações de 10^6 a 10^9 organismos por ml. Os resultados desse estudo são listados na Tabela 4.

Tabela 4: Reatividade cruzada com micro-organismos patogênicos

Organismo	Origem	MV [OD 450/620]
Adenovírus	Sobrenadante da cultura de células	-0,005
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Cultura	-0,001
<i>Arcobacter butzleri</i>	Cultura	-0,003

Astrovírus	Sobrenadante da cultura de células	-0,001
<i>Bacillus cereus</i>	Cultura	0,001
<i>Bacteroides fragilis</i>	Cultura	-0,002
<i>Campylobacter coli</i>	Cultura	0,001
<i>Campylobacter fetus subesp.</i>	Cultura	0,001
<i>Campylobacter jejuni</i>	Cultura	0,001
<i>Campylobacter lari subesp.</i>	Cultura	0,006
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Cultura	0,001
<i>Candida albicans</i>	Cultura	-0,001
<i>Citrobacter freundii</i>	Cultura	0,000
<i>Clostridium bifermentans</i>	Cultura	-0,002
<i>Clostridium difficile</i>	Cultura	-0,003
<i>Clostridium novyi</i>	Cultura	-0,004
<i>Clostridium perfringens</i>	Cultura	-0,001
<i>Clostridium septicum</i>	Cultura	-0,005
<i>Clostridium sordellii</i>	Cultura	-0,001
<i>Clostridium sporogenes</i>	Cultura	-0,006
<i>Cryptosporidium muris</i>	Cultura	-0,005
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Cultura	-0,003
<i>E. coli</i> (EPEC)	Cultura	0,001
<i>E. coli</i> (ETEC)	Cultura	0,002
<i>E. coli</i> (STEC)	Cultura	0,000
<i>Entamoeba histolytica</i>	Cultura	-0,002
<i>Enterobacter cloacae</i>	Cultura	0,002
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cultura	-0,001
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Cultura	0,001
<i>Proteus vulgaris</i>	Cultura	0,000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cultura	0,006
Rotavírus	Sobrenadante da cultura de células	-0,005
<i>Salmonella enteritidis</i>	Cultura	0,000
<i>Salmonella typhimurium</i>	Cultura	0,000
<i>Serratia liquefaciens</i>	Cultura	-0,001
<i>Shigella flexneri</i>	Cultura	0,003
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cultura	0,001
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cultura	0,001
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Cultura	-0,001
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Cultura	0,000

13.5 Substâncias interferentes

As substâncias da lista a seguir não apresentaram efeitos sobre os resultados do teste quando misturadas às amostras de fezes positivas e negativas da giárdia nas concentrações descritas: sulfato de bário (18,5% w/w [peso/ peso]), loperamida (medicamento antidiarreico; 0,02% w/w), Pepto-Bismol (medicamento antidiarreico, 6,6% v/w [volume/ peso]), mucinas (5,0% w/w), ciclamato (adoçante artificial, 1,3% v/w), sangue humano (5,0% v/w), ácido esteárico/ácido palmítico (mistura 1:1, 40,0% w/w), metronidazol (0,5%) (antibiótico 3,0% v/w), diclofenaco (0,1% v/w).

Apêndice

Símbolos específicos do teste:

Plate	Placa de micropoços
Diluent 1	Tampão de diluição da amostra
Wash	Tampão de lavagem
Control +	Controle positivo
Control -	Controle negativo
Conjugate 1	Conjugado 1
Conjugate 2	Conjugado 2
Substrate	Substrato
Stop	Reagente de parada

Bibliografia

1. Black, R. E. et al.: Giardiasis in day-care centers: Evidence of person-to-person transmission. *Pediatrics* 60 (No. 4), 486 - 491 (1977).
2. Craun, G. F.: Waterborne Giardiasis in the United States: A review. *Am. J. Pub. Health* 69 (No. 8), 817 - 819 (1979).
3. Nask, T. E. et al.: Experimental human infections with *Giardia lamblia*. *J. Infect. Dis.* 156 (No. 6), 974 - 984 (1987).
4. Smith, H. V. et al.: *Giardia* and Giardiasis: What's in a name? *Microbiol. Eur.* 3 (No. 1), 22 - 29 (1995).
5. Thompson, R. C. A., Reynoldson, J. A.: *Giardia* and Giardiasis. *Adv. Parasitol.* 32, 71 - 160 (1993).
6. Xiao, L.: *Giardia* infection in farm animals. *Parasitology today* 10 (No. 11), 436 - 438 (1994).
7. Schunk, M. et al.: Detection of *Giardia lamblia* and *Entamoeba histolytica* in stool samples by two enzyme immunoassays. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 20, 389 – 391 (2001).