



TECHLAB® *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK™

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

ENGLISH p. 3

A Rapid Membrane Enzyme Immunoassay for the Detection of *Entamoeba histolytica* Adhesin in Human Fecal Specimens

Catalog No. T30409 (25 Tests)

ESPAÑOL pág. 8

Inmunoensayo enzimático rápido de membrana para la detección de adhesina de *Entamoeba histolytica* en muestras fecales humanas

N.º de catálogo. T30409 (25 pruebas)

DEUTSCH s. 13

Ein Membranenzym-Immunschnelltest für den Nachweis von *Entamoeba histolytica* -Adhäsine in menschlichen Stuhlproben

Katalognr. T30409 (25 Tests)

FRANÇAIS p. 18

Test immunoenzymatique sur membrane rapide pour la détection de l'adhésine d'*Entamoeba histolytica* dans les échantillons de selles humaines

Catalogue n° T30409 (25 tests)

Pour utilisation en laboratoire uniquement au Canada

ČEŠTINA str. 23

Rychlá membránová enzymová imunoanalýza pro stanovení adhezínu *Entamoeba histolytica* ve vzorcích lidské stolice

Katalogové č. T30409 (25 testů)

DANSK s. 28

En hurtig membranenzym-immunoassay til påvisning af *Entamoeba histolytica*-adhesin i humane fæcesprøver

Katalog nr. T30409 (25 test)

ΕΛΛΗΝΙΚΑ σελ. 33

Μια ταχεία ανάλυση ενζυμικού ανοσοπροσδιορισμού σε μεμβράνη για την ανίχνευση της προσκολλητίνης της *Entamoeba histolytica* (ιστολυτικής ενδομοιάδας) σε δείγματα ανθρώπινων κοπράνων

Αρ. καταλόγου T30409 (25 εξετάσεις)

MAGYAR 38. o.

Gyors membrán enzim immunoassay az *Entamoeba histolytica* adhezín kimutatására emberi székletmintákban

Katalógusszám: T30409 (25 teszt)

ITALIANO p. 43

Un dosaggio immunoenzimatico rapido a membrana per il rilevamento dell'adesina di *Entamoeba histolytica* nei campioni fecali umani

N. di catalogo T30409 (25 Test)

NEDERLANDS p. 48

Een snelle membraanenzymimmunotest voor de detectie van *Entamoeba histolytica*-adhesine in monsters van menselijke fecaliën

Catalogusnr. T30409 (25 onderzoeken)

NORSK s. 53

En hurtig membranenzymimmunanalyse for påvisning av adhesin av *Entamoeba histolytica* i humane avførsingsprøver

Katalognr. T30409 (25 tester)

SVENSKA sid. 58

En snabb immunoanalys av membranenzym för påvisande av *Entamoeba histolytica*-adhesin i faecesprover från människa

Katalognr. T30409 (25 tester)

TÜRKÇE syf. 63

İnsan dışkı Örneklerinde *Entamoeba histolytica* Adezinin Saptanması İçin Bir Hızlı Membran Enzimi Bağışıklık Testi

Katalog No. T30409 (25 Test)

ROMÂNĂ p. 68

Imunoenzaj rapid al enzimelor pentru detectarea adezinei *Entamoeba histolytica* în probele coprologice umane

Nr. catalog T30409 (25 de teste)

PORTUGUÊS p. 73

Um Ensaio Imunoenzimático Rápido de Membrana para a Detecção de *Entamoeba histolytica* Adhesin em

Amostras Fecais Humanas

Catálogo N.º T30409 (25 Testes)

TECHLAB® *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK™

INTENDED USE

The TECHLAB® *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK™ test is a rapid membrane enzyme immunoassay for the qualitative detection of adhesin from *Entamoeba histolytica* in a single use cassette. It is intended for use with human fecal specimens from patients with diarrhea or dysentery as an aid in the diagnosis of *E. histolytica* gastrointestinal infection. Test results should be considered in conjunction with patient history.

EXPLANATION

Entamoeba histolytica and *Entamoeba dispar* are intestinal parasites that infect approximately half a billion people worldwide each year (1). It is necessary to distinguish between the two species because *E. histolytica* is pathogenic, causing intestinal amebiasis (e.g. diarrhea, dysentery, colitis) and extra-intestinal amebiasis (e.g. liver abscesses). *E. dispar* is not associated with symptomatic disease and inaccurate diagnosis may result in unnecessary treatment. The most common method used to diagnose amebiasis has been wet mount microscopy, which suffers from poor sensitivity and specificity. Trophozoites and cysts are not easily identified in a single fecal specimen and it is difficult to visually distinguish between *E. dispar* and *E. histolytica* when they are observed. Detection of *Entamoeba* spp. by immunoassay provides an alternative method of diagnosis with greater sensitivity (2). Immunoassays specific for *E. histolytica*, such as the *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK test, provide the added benefit of only identifying *E. histolytica* infections. Large numbers of specimens can be tested rapidly and objectively, and the procedure is less labor-intensive than most other methods of diagnosis.

PRINCIPLE OF THE TEST

The *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK test utilizes antibodies specific for *E. histolytica*. The *Membrane Device* contains a *Reaction Window* with two vertical lines of immobilized antibodies. The test line ("T") contains monoclonal antibodies specific for *E. histolytica* adhesin. The control line ("C") contains antibodies to horseradish peroxidase (HRP). The *Conjugate* consists of antibodies to *E. histolytica* coupled to horseradish peroxidase. To perform the test, the sample is added to a tube containing a mixture of *Diluent* and *Conjugate*. The diluted sample-conjugate mixture is added to the *Sample Well* and the device is allowed to incubate at room temperature for 15 minutes. During the incubation, any *E. histolytica* adhesin in the sample binds to the antibody-peroxidase conjugate. The antigen-antibody-peroxidase complexes migrate through a filter pad to a membrane where they are captured by the immobilized anti-adhesin antibodies in the line. The *Reaction Window* is subsequently washed with *Wash Buffer*, followed by the addition of *Substrate*. After a 10 minute incubation period, the *Reaction Window* is examined visually for the appearance of vertical blue lines on the "C" and "T" sides of the *Reaction Window*. A blue line on the "T" side of the *Reaction Window* indicates a positive result. A positive "C" reaction, indicated by a vertical blue line on the "C" side of the *Reaction Window*, monitors/ confirms that the sample and reagents were added correctly, the reagents were active at the time of performing the assay, and that the sample migrated properly through the *Membrane Device*. It also confirms the reactivity of the other reagents associated with the assay.

MATERIALS PROVIDED

MEM DEV

Membrane Devices – Each pouch contains 1 device

CONJ ENZ

Conjugate (2 mL) – Antibody specific for *E. histolytica* coupled to horseradish peroxidase in a buffered protein solution

DIL SPE

Diluent (16 mL) – Buffered protein solution with black graduated dropper assembly

CONTROL +

Positive Control (1 mL) – *E. histolytica* antigen in a buffered protein solution

SUBS REAG

Substrate (3.5 mL) – Solution containing tetramethylbenzidine

WASH REAG

Wash Buffer (12 mL) – Buffered solution with white graduated dropper assembly

Disposable plastic pipettes (50) – Graduated at 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL, and 500 µL

IVD

In Vitro Diagnostic Medical Device

MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Small test tubes (e.g., plastic microcentrifuge tubes)

Wooden Applicator Sticks

Disposable gloves

Pipettor and tips

Timer

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date of the kit is printed on the kit box label. Store the kit between 2°C and 8°C. Return the kit to the refrigerator as soon as possible after use.

PRECAUTIONS

- Upon arrival, inspect the kit to ensure that components are not frozen or warm to the touch due to improper shipping conditions, and that there are no signs of leakage.
- Bring all components to room temperature before use to ensure proper kit reactivity.
- The *Substrate* reagent should be colorless. If the *Substrate* reagent changes to a dark blue/violet color, discard and call Technical Services for a replacement.
- Reagents from different kits should not be mixed or interchanged. Do not use a kit past the expiration date.
- Caps, tips and dropper assemblies are color-coded; do NOT mix or interchange!
- Use fecal specimens within 72 hours of collection to obtain optimal results. Specimens that are frozen may lose reactivity due to freezing and thawing.
- The test has been optimized for sensitivity and specificity. Alterations of the specified procedure and/or test conditions may affect the sensitivity and specificity of the test. Do not deviate from the specified procedure.
- Fecal specimens and used membrane devices may contain potentially infectious agents and should be handled at "Biosafety Level 2" as recommended in the CDC/NIH Manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories." Wear disposable gloves when performing the test.
- For *in vitro* diagnostic use.

COLLECTION, HANDLING AND STORAGE OF FECAL SPECIMENS

Acceptable Sample Types
Fresh Fecal Specimens
Frozen Fecal Specimens (frozen undiluted)

Do Not Use
Fecal specimens in Formalin-based fixative (e.g. sodium acetate formalin, 10% formalin)
Fecal specimens in alcohol-based fixative (e.g. polyvinyl alcohol)
Fecal specimens in transport media (e.g. Cary Blair)

- Use standard in-house collection and handling procedures for fecal specimens. Collect fecal specimens in clean, leak-proof containers.
- Store fresh fecal specimens between 2°C and 8°C up to 72 hours. Freeze specimens and store at ≤ -10°C if testing cannot be performed within 72 hours of collection. Test specimens that are less than 24 hours old, whenever possible.
- Repeated freeze/thaw cycles should be avoided. If using frozen specimens, thaw at room temperature.
- Do not store fecal specimens in the *Diluent*.

TEST PROCEDURE

- Be attentive to the total assay time when testing more than one fecal specimen.
- Bring all reagents and devices to room temperature before use. Remove the reagents from the foam insert to reduce the time needed to warm to room temperature
- Set up and label one small test tube for each specimen and optional external control.**
- Add 500µL of *Diluent* to each tube using the black graduated dropper assembly.**

Sample Type	Volume of <i>Diluent</i>
Fresh Fecal Specimens	500 µL
Frozen Fecal Specimens (frozen undiluted)	500 µL



- Add one drop of *Conjugate* (red capped bottle) to each tube.** Hold the dropper bottle vertically to ensure proper drop size. The *Diluent* and *Conjugate* should be added to all tubes prior to adding the specimens.

- Obtain one disposable plastic transfer pipette (supplied with the kit) for each sample.

Graduated Transfer Pipette:



- For Liquid/Semi-Solid Specimens** - Mix specimen thoroughly. Using a transfer pipet, add 25 µL of specimen to the *Diluent/Conjugate* mixture in the tube.

For Formed/Solid specimens - Mix specimen thoroughly using a wooden applicator stick and transfer a small portion (approximately 2 mm diameter, the equivalent of 25 µL) of the specimen into the *Diluent/Conjugate* mixture. Emulsify the specimen using the applicator stick.

NOTE: Transferring too little sample, or failure to mix and completely suspend the sample in the *Diluent/Conjugate* mixture, may result in a false-negative test result. The addition of too much sample may cause invalid results due to restricted flow.

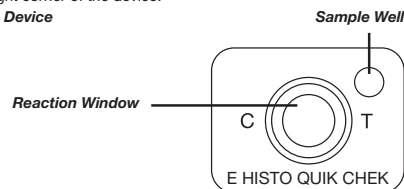
- Optional External Controls:**

External Positive Control - add one drop of *Positive Control* (gray-capped bottle) to the appropriate test tube.

External Negative Control - add 25 µL *Diluent* to the appropriate test tube.

- For all test and control samples, close the tubes and mix thoroughly using a vortex mixer or by inverting the tube several times. Samples or controls diluted in the *Diluent/Conjugate* mixture may be incubated at room temperature up to 2 hours prior to addition to the *Membrane Device*.
- Open one room temperature *Membrane Device* pouch for each diluted specimen and external control (as necessary). Label each device appropriately and orient it on a flat surface so the "E HISTO QUIK CHEK" print is at the bottom of the device, and the small *Sample Well* is located in the top right corner of the device.

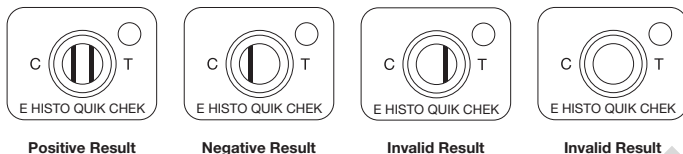
Membrane Device



- Make sure that each diluted sample is thoroughly mixed (See Step 9) before adding to the *Membrane Device*. **Using a new transfer pipette, transfer 500 µL (topmost graduation) from each tube into the *Sample Well* (smaller hole in the top right corner of the device) of a *Membrane Device*.** When adding the sample into the *Sample Well*, make sure that the tip of the transfer pipette is inside the *Sample Well* hole and angled towards the *Reaction Window*. Expel the diluted sample onto the wicking pad inside the *Membrane Device*.

12. **Incubate the device at room temperature for 15 minutes** – the sample will wick through the device and a wet area will spread across the *Reaction Window*. The 15-minute incubation step begins after the last diluted sample-conjugate mixture has been transferred to the last *Membrane Device*.
NOTE FOR SAMPLES THAT FAIL TO MIGRATE:
Occasionally, a diluted sample fails to migrate properly and the Reaction Window does not fully wet. If the Reaction Window does not appear to be completely wet within 5 minutes of adding the sample to the Sample Well, then add 100 µL (4 drops) of Diluent to the Sample Well and wait an additional 5 minutes (for a total of 20 minutes). Continue with the next step of the Test Procedure.
13. **After the incubation, add 300 µL of Wash Buffer to the central Reaction Window using the graduated white dropper assembly.** Allow the Wash Buffer to be absorbed completely.
14. **Add 2 drops of Substrate (white-capped bottle) to the central Reaction Window.**
15. Incubate 10 minutes at room temperature. Read visually and record results after the incubation.

INTERPRETATION OF RESULTS



NOTE: The External Controls are intended to monitor for gross systematic errors only. If the expected results are not observed with the positive and negative Controls, this could indicate that the controls themselves are not working correctly.

1. Interpretation of the test is most reliable when the device is read immediately at the end of the reaction, in a well-lit area, and from directly over the device at a normal working distance.
2. **Positive Result:** Two vertical blue lines are visible, the control line on the "C" (left) side of the *Reaction Window* and the test line on the "T" (right) side of the *Reaction Window*. The lines may appear faint to dark in intensity - any line on the "T" side is considered positive. Do not interpret membrane discoloration as a positive result. A positive result indicates the presence of *E. histolytica* antigen, and that there is a properly reactive positive control line.
3. **Negative Result:** A single vertical blue line is visible on the "C" (left) side of the *Reaction Window* and no test line is visible on the "T" side of the *Reaction Window*. A negative result indicates that *E. histolytica* antigen is either absent in the sample or is below the detection limit of the test, and that there is a properly reactive positive control line.
4. **Invalid Result:** A single line is visible on the "T" side of the *Reaction Window*, or no lines are visible in the *Reaction Window*. The test is invalid if a control line is not present at the completion of the test reaction.

QUALITY CONTROL

The validity of the test results using the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* test is dependent upon the proper reaction of the internal and external controls.

Internal: A vertical blue control line must be visible on the "C" side of the *Reaction Window* on every *Membrane Device* that is tested. This confirms that the sample and reagents were added correctly and reacted properly in the assay. A clear background in the result area is considered an internal negative control. It may appear white to light blue and any developed lines will be clearly visible.

External: The reactivity of the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* test should be verified on receipt using the *Positive Control* and negative control (*Diluent*). The *Positive Control* confirms the reactivity of the other reagents associated with the assay, and is not intended to ensure precision at the analytical assay cut-off. Additional tests can be performed with the controls to meet the requirements of local, state and/or federal regulations and/or accrediting organizations.

LIMITATIONS

1. A negative test result does not preclude the possibility of the presence of *E. histolytica* adhesin in the specimen which may occur if the level of antigen is below the detection limit of the test.
2. The *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* test is qualitative. The intensity of the color should not be interpreted quantitatively.

EXPECTED VALUES

Normal healthy individuals should not be infected with *E. histolytica* and should test negative in the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* test. A positive test result in the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* test indicates that the person is shedding detectable amounts of *E. histolytica* antigen. The incidence of *E. histolytica* infection varies significantly between populations and geographic regions. It is estimated that *Entamoeba histolytica* infects about 50 million people around the world (2). Roughly 90% of these persons remain asymptomatic, whereas about 10% develop clinical symptoms ranging from gastrointestinal disease to liver abscesses. High risk groups include persons who have traveled abroad, immigrants, immunocompromised persons, migrant workers, and active male homosexuals (2, 3). Nonpathogenic strains (*E. dispar*) are predominant among male homosexuals (4). The disease often is transmitted by asymptomatic carriers of *E. histolytica*.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The performance of the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* test was compared to the *E. HISTOLYTICA II* test and Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* test with discrepant samples resolved by PCR. Fecal samples included 449 frozen samples. Age information was available for 350 patients. Of the 350 patients, 87% were < 18 years. Sex information was available for 424 patients, and 46% were male and 54% were female. Table 1 shows a summary of the clinical performance of the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* test at all 3 sites.

Table 1. Summary of clinical performance comparing the *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK test to the *E. HISTOLYTICA* II test, and to the Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* test.

n = 449	<i>E. HISTOLYTICA</i> II Positive	<i>E. HISTOLYTICA</i> II Negative
<i>E. HISTOLYTICA</i> QUIK CHEK Positive	94	3
<i>E. HISTOLYTICA</i> QUIK CHEK Negative	3	349

	95% Confidence Interval	
Percent Positive Agreement	96.9%	90.6% - 99.2%
Percent Negative Agreement	99.1%	97.3% - 99.8%
Overall Percent Agreement	98.7%	98.5% - 98.9%
*Resolved by PCR – Overall Percent Agreement	99.6%	99.6% - 99.6%

n = 449	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Positive	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Negative
<i>E. HISTOLYTICA</i> QUIK CHEK Positive	87	10
<i>E. HISTOLYTICA</i> QUIK CHEK Negative	24	328

	95% Confidence Interval	
Percent Positive Agreement	78.4%	69.4% - 85.4%
Percent Negative Agreement	97.0%	94.5% - 98.5%
Overall Percent Agreement	92.4%	91.0% - 93.6%
*Resolved by PCR – Overall Percent Agreement	99.3%	99.2% - 99.4%

*The 40 discrepant specimens were resolved by purification of DNA from the fecal specimens and polymerase chain reaction (PCR) amplification for *E. histolytica*, *E. dispar*, and *E. moshkovskii*.

For the 6 discrepant specimens between *E. HISTOLYTICA* II and *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK: The 3 specimens positive by *E. HISTOLYTICA* II and negative by *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK included 2 *E. histolytica* PCR-positive and 1 *E. histolytica* PCR-negative. The 3 specimens negative by *E. HISTOLYTICA* II and positive by *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK were *E. histolytica* PCR-positive.

For the 34 discrepant specimens between the Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* test and the *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK: The 24 specimens positive by Remel™ ProSpec™ and negative by *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK included 3 *E. histolytica* PCR-positives, 13 *E. dispar* PCR-positives, and 8 *Entamoeba* PCR-negatives. The 10 specimens negative by Remel™ ProSpec™ and positive by *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK were *E. histolytica* PCR-positive.

REPRODUCIBILITY

The reproducibility of the *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK test was determined using 12 fecal specimens that were coded to prevent their identification during testing. Testing was performed at 2 independent laboratories and on-site at TECHLAB®, Inc. The samples were tested, twice a day over a 5-day period by multiple technicians at each site using 2 different kit lots. A positive and negative control was run with each panel of the masked samples. The results from each laboratory were submitted to TECHLAB®, Inc. and compared with in-house results. The results were consistent among the different locations, and exhibited a correlation of 100%. The samples produced the expected results 100% of the time.

CROSS REACTIVITY

The *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK test was evaluated for cross-reactivity with the bacterial and viral strains listed below. None of the strains were shown to interfere with the performance of *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK test.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	

Adenovirus, 2, 5, 40, 41	Human Adenovirus 1, 3	Human Enterovirus 69, 70, 71
Coxsackievirus B5	Human Coronavirus	Human parechovirus 1
Echovirus 11, 18, 22, 33	Human Coxsackievirus B2, B3, B4	[Echovirus 22]
Enterovirus 68, 69	Human Echovirus 9	Human Rotavirus

Additionally, the *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK test was run on fecal specimens documented to be positive for other parasites by microscopy. No cross-reactivity was seen with the following organisms.

<i>Entamoeba coli</i>	<i>Chilomastix mesnili</i>	Hookworm eggs
<i>Entamoeba dispar</i>	<i>Cyclospora</i> spp.	<i>Iodamoeba bütschlii</i>
<i>Entamoeba moshkovskii</i>	<i>Endolimax nana</i>	<i>Trichomonas hominis</i>
<i>Ascaris lumbricoides</i> eggs	<i>Giardia</i> spp.	<i>Trichuris trichiura</i> eggs
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Hymenolepis nana</i>	

INTERFERING SUBSTANCES (U.S. FORMULATION)

The following substances had no effect on positive or negative test results analyzed at the concentrations indicated: Hog gastric mucin (3.5% w/v), Human blood (40% v/v), Hydrocortisone (40% v/v), Barium sulfate (5% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Maalox® Advanced (5% v/v) Steric Acid, (40% w/v), Palmitic Acid (40% w/v), Metronidazole (0.25% w/v), Phenylephrine (40% w/v), Naproxen Sodium (40% w/v), Nonoxynol-9 (40% v/v), Vancomycin (0.25% w/v), Priolsec OTC® (5 µg/mL), TUMS (50 µg/mL), Tagamet® (5 µg/mL), Ciprofloxacin (0.25% w/v), Mylanta® (4.2 mg/mL), and Human Urine (5% v/v).

PRECISION – INTRA-ASSAY

For the determination of intra-assay performance, twelve human fecal specimens were analyzed by the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* test. Of these twelve specimens, six were positive for *E. histolytica* of varying levels (low, moderate, and high) and six were negative for *E. histolytica*. Each specimen was assayed five times in the same test run, using two different kit lots. A positive and negative control was run with each panel. All positive samples remained positive and all negative samples remained negative.

PRECISION – INTER-ASSAY

For the determination of inter-assay performance, twelve human fecal specimens were analyzed by the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* test. Of these twelve specimens, six were positive for *E. histolytica* of varying levels (low, moderate, and high) and six were negative for *E. histolytica*. The samples were tested, twice a day by multiple technicians over a 12-day period using 2 different kit lots. A positive and negative control was run on each day. All positive samples remained positive and all negative samples remained negative.

ANALYTICAL SENSITIVITY

The Limit of Detection (LoD) for the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* test was established at a concentration of 0.2 ng/mL for *E. histolytica* adhesin.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

USO PREVISTO

La prueba TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ es un inmunoensayo enzimático rápido de membrana para la detección cualitativa de adhesina de *Entamoeba histolytica* en una cassette de uso único. Está pensado para uso con muestras fecales de pacientes con diarrea o disentería como ayuda en el diagnóstico de infección gastrointestinal por *E. histolytica*. Los resultados de la prueba deben valorarse conjuntamente con la historia clínica del paciente.

FUNDAMENTO

Entamoeba histolytica y *Entamoeba dispar* son parásitos intestinales que infectan a aproximadamente 500 millones de personas en todo el mundo cada año (1). Es necesario distinguir entre las dos especies porque *E. histolytica* es patógena y causa amebiasis intestinal (p. ej., diarrea, disentería, colitis) y amebiasis extraintestinal (p. ej., absceso hepático). *E. dispar* no se asocia a enfermedad sintomática y el diagnóstico inexacto puede conducir a un tratamiento innecesario. El método más común empleado para diagnosticar la amebiasis ha sido la microscopia en fresco, que tiene baja sensibilidad y especificidad. Los trofozoítos y los quistes no se identifican fácilmente en una muestra fecal única y es difícil distinguir visualmente entre *E. dispar* y *E. histolytica* cuando se observan. La detección de especies de *Entamoeba* mediante inmunoensayo supone un método diagnóstico alternativo con mayor sensibilidad (2). Los inmunoensayos específicos para *E. histolytica*, como la prueba E. HISTOLYTICA QUIK CHEK, aportan el beneficio añadido de identificar exclusivamente las infecciones por *E. histolytica*. Se pueden analizar con rapidez y objetividad gran número de muestras y el procedimiento es menos laborioso que la mayoría de los demás métodos de diagnóstico.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba E. HISTOLYTICA QUIK CHEK utiliza anticuerpos específicos de *E. histolytica*. El dispositivo de membrana contiene una Ventana de reacción con dos líneas verticales de anticuerpos inmovilizados. La línea de prueba ("T") contiene anticuerpos monoclonales específicos para la adhesina de *E. histolytica*. La línea de control ("C") contiene anticuerpos frente a la peroxidasa de rábano picante (HRP). El Conjugado contiene anticuerpos frente a *E. histolytica* unidos a peroxidasa de rábano picante. Para realizar el test, la muestra se añade a un tubo que contiene una mezcla de Diluyente y Conjugado. La mezcla muestra-conjugado diluida se añade al Pocillo de muestra y el dispositivo se incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos. Durante la incubación, cualquier cantidad de adhesina de *E. histolytica* presente en la muestra se une al conjugado anticuerpo-peroxidasa. Los complejos antígeno-anticuerpo-peroxidasa migran a través de un filtro alomohadillado y alcanzan una membrana en la que son captados por los anticuerpos anti-adhesina inmovilizados en la línea. A continuación, se lava la Ventana de reacción con Tampón de lavado, seguido por la adición de Sustrato. Después de un período de incubación de 10 minutos, se examina visualmente la Ventana de reacción en busca de la aparición de líneas azules verticales en los lados "C" y "T" de la Ventana de reacción. Una línea azul en el lado "T" de la Ventana de reacción indica un resultado positivo. Una reacción "C" positiva, indicada por una línea azul vertical en el lado "C" de la Ventana de reacción, vigila/confirmar que la muestra y los reactivos se han añadido correctamente, los reactivos estaban activos en el momento de la realización del ensayo y que la muestra migró adecuadamente a través del Dispositivo de membrana. Confirma también la reactividad de los otros reactivos asociados al ensayo.

MATERIALES SUMINISTRADOS

MEM DEV

Dispositivos de membrana – Cada bolsa contiene 1 dispositivo

CONJ ENZ

Conjugado (2 ml) – Anticuerpo específico de *E. histolytica* unido a peroxidasa de rábano picante en una solución tamponada proteínica

DIL SPE

Diluyente (16 ml) – Solución tamponada proteínica con cuentagotas graduado de color negro

CONTROL +

Control positivo (1 ml) – antígeno de *E. histolytica* en una solución tamponada de proteínas

SUBS REAG

Sustrato (3,5 ml) – Solución con tetrametilbenzidina

WASH REAG

Tampón de lavado (12 ml) – Solución tamponada con cuentagotas graduado de color blanco

Pipetas de plástico desechables (50) – Graduadas a 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl y 500 µl

IVD

Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

MATERIALES Y EQUIPAMIENTO NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Tubos de ensayo pequeños (p. ej. tubos de plástico de microcentrifugadora)

Palillos aplicadores de madera Guantes desechables Pipeta y puntas de pipeta Cronómetro

TIEMPO DE VALIDEZ Y CONSERVACIÓN

La fecha de caducidad del kit está impresa en la etiqueta de la caja del kit. Conserve el kit a una temperatura entre 2°C y 8°C. Vuelva a poner el kit en la nevera cuanto antes después de su uso.

PRECAUCIONES

1. A su recepción, se inspeccionará el kit para comprobar que los componentes no están congelados ni calientes al tacto debido a condiciones de envío inadecuadas y que no hay signos de fuga.
2. Lleve todos los componentes a temperatura ambiente antes de su uso, para garantizar la reactividad adecuada del kit.
3. El reactivo Sustrato debe ser incoloro. Si el reactivo Sustrato adquiere un color azul oscuro/violeta, deseche y avise al Servicio técnico para su sustitución.
4. No deben mezclarse ni intercambiarse reactivos de kits diferentes. No utilizar los kits después de su fecha de caducidad.
5. ¡Los tapones, las puntas y los cuentagotas están codificados con colores y NO deben mezclarse!
6. Para obtener unos resultados óptimos deben analizarse las muestras fecales en un plazo no superior a 72 horas a partir de su recogida. Las muestras congeladas pueden perder su reactividad como consecuencia de los procesos de congelación y descongelación.

- La prueba se ha optimizado para mejorar la sensibilidad y la especificidad. Las alteraciones del procedimiento especificado y/o de las condiciones de la prueba pueden afectar a su sensibilidad y especificidad. No se desvíe del procedimiento especificado.
- Las muestras fecales y los dispositivos de membrana usados pueden contener agentes potencialmente infecciosos y deben manejarse en un "Nivel de Bioseguridad 2", tal como se recomienda en el Manual de los CDC/NIH, "Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos." Utilice guantes desechables para realizar la prueba.
- Para uso diagnóstico *in vitro*.

RECOGIDA, MANIPULACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS FECALES

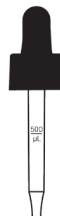
Tipos de muestra aceptables	No utilizar
Muestras fecales recientes	Muestras fecales en fijador basado en formol (p. ej., formol acetato sódico, formol al 10 %)
Muestras fecales congeladas (congeladas no diluidas)	Muestras fecales en fijador basado en alcohol (p. ej., alcohol polivinílico)
	Muestras fecales en medios de transporte (p. ej., Cary Blair)

- Utilice los procedimientos estándar de recogida y transporte de las muestras fecales utilizados a nivel interno. Recoja las muestras fecales en recipientes limpios, sin fugas.
- Conservar las muestras fecales recientes entre 2 y 8° C hasta 72 horas. Congele las muestras y consérvelas a ≤ -10°C si el test no puede realizarse en las 72 horas siguientes a la recogida de la muestra. Estudie muestras que tengan menos de 24 horas de antigüedad, siempre que sea posible.
- Deben evitarse los ciclos repetidos de congelación/descongelación. Si se utilizan muestras congeladas, descongele a temperatura ambiente.
- No conserve las muestras fecales en el *Diluyente*.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

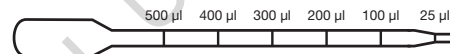
- Preste atención al tiempo total del análisis cuando realice la prueba con más de una muestra fecal.
- Lleve todos los reactivos y dispositivos a temperatura ambiente antes del uso. Retire los reactivos de la tira de espuma para reducir el tiempo necesario para calentarlos a temperatura ambiente.
- Asigne e identifique un tubo de ensayo pequeño para cada muestra, así como controles externos opcionales.
- Añada 500 µl de *Diluyente* a cada tubo usando el cuentagotas graduado de color negro.

Tipo de muestra	Volumen de <i>diluyente</i>
Muestras fecales recientes	500 µl
Muestras fecales congeladas (congeladas no diluidas)	500 µl



- Añada una gota de **Conjugado (frasco con tapón rojo)** a cada tubo. Sostenga los frascos del cuentagotas verticalmente para garantizar un tamaño de gota adecuado. El *Diluyente* y el *Conjugado* deben añadirse a los tubos antes de añadir las muestras.
- Obtenga una pipeta de transferencia desechable de plástico (suministrada con el kit) para cada muestra.

Pipeta graduada:



- Para muestras líquidas/semisólidas** - Mezcle la muestra concienzudamente. Utilizando una pipeta de transferencia, añada 25 µl de muestra a la mezcla de *Diluyente/Conjugado* en el tubo.

Para muestras formadas/sólidas - Mezcle bien la muestra con un palito aplicador de madera y transfiera una parte pequeña (aproximadamente de 2 mm de diámetro, el equivalente de 25 µl) de la muestra a la mezcla de *Diluyente/Conjugado*. Emulsione la muestra con la varilla aplicadora.

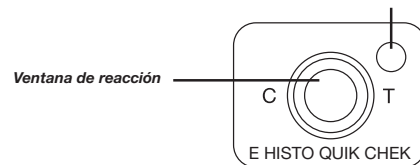
NOTA: Si se transfiere una cantidad muy reducida de muestra o si no se mezcla y se suspende completamente la muestra en la mezcla de *Diluyente/Conjugado* puede obtenerse un resultado falso negativo en la prueba. Si se añade una cantidad excesiva de muestra, pueden obtenerse resultados no válidos debido al reducido flujo.
- Controles externos opcionales:**

Control positivo externo - añada una gota de *Control positivo* (frasco con tapón gris) al tubo de ensayo adecuado.

Control negativo externo - añada 25 µl de *Diluyente* al tubo de ensayo adecuado.
- Para todas las muestras de prueba y de control, cierre los tubos y mezcle cuidadosamente usando un mezclador de tipo vórtex o dando la vuelta al tubo varias veces. Las muestras o controles diluidos en la mezcla de *Diluyente/Conjugado* pueden incubarse a temperatura ambiente durante hasta 2 horas antes de la adición del *Dispositivo de membrana*.
- Abra una bolsa de *Dispositivo de membrana* a temperatura ambiente para cada muestra diluida y control externo (según sea necesario). Identifique los dispositivos de forma apropiada y oriéntelos en una superficie plana de forma que la inscripción "E HISTO QUIK CHEK" del dispositivo se encuentre en el fondo del mismo y el *Pocillo de muestra* pequeño se encuentre en la esquina superior derecha del dispositivo.

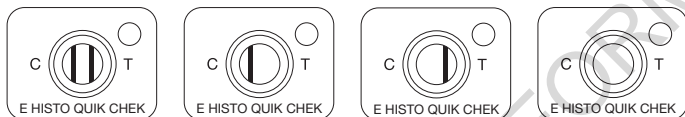
Dispositivo de membrana

Pocillo de muestra



11. Compruebe que cada muestra diluida se mezcla bien (véase el paso 9) antes de la adición al dispositivo de membrana. **Usando una nueva pipeta de transferencia, transfiera 500 µl (graduación máxima) de cada tubo al Pocillo de muestra (orificio más pequeño en la esquina superior derecha del dispositivo) de un Dispositivo de membrana.** Al añadir la muestra al pocillo de muestra, asegúrese de que la punta de la pipeta de transferencia está dentro del orificio del pocillo de muestra y angulada hacia la Ventana de reacción. Expulse la muestra diluida hacia la almohadilla de absorción dentro del Dispositivo de membrana.
12. **Incube el dispositivo a temperatura ambiente durante 15 minutos** – la muestra se absorberá a través del dispositivo y el área húmeda se extenderá en la Ventana de reacción. El paso de incubación de 15 minutos comienza después de que se haya transferido la última mezcla de muestra-conjugado diluida al último Dispositivo de membrana.
NOTA PARA LAS MUESTRAS QUE NO MIGRAN:
Ocasionalmente, una muestra diluida no migra adecuadamente y la ventana de reacción no se humedece completamente. Si la ventana de reacción no aparece completamente húmeda en el plazo de 5 minutos después de añadir la muestra al pocillo, añada 100 µl (4 gotas) de diluyente al Pocillo y espere otros 5 minutos (para un total de 20 minutos). Continúe con el paso siguiente del procedimiento de prueba.
13. **Después de la incubación, añada 300 µl de Tampón de lavado a la Ventana de reacción central usando el cuentagotas graduado blanco.** Deje que el Tampón de lavado se absorba completamente.
14. **Añada 2 gotas de Sustrato (frasco con tapón blanco) a la Ventana de reacción.**
15. Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente. Lea y anote los resultados observados después de la incubación.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS



Resultado positivo

Resultado negativo

Resultado no válido

Resultado no válido

NOTA: Los controles externos están pensados para vigilar exclusivamente errores sistemáticos importantes. Si no se observan los resultados esperados con los controles positivo y negativo, esto podría indicar que los propios controles no están funcionando adecuadamente.

1. La interpretación de la prueba es especialmente fiable cuando el dispositivo se lee inmediatamente al final de la reacción, en un área bien iluminada y directamente del dispositivo a una distancia normal de trabajo.
2. **Resultado positivo:** Son visibles dos líneas verticales azules, la línea control en el lado "C" (izquierdo) de la Ventana de reacción y la línea de prueba en el lado "T" (derecho) de la Ventana de reacción. Las líneas pueden tener una intensidad débil a oscura – cualquier línea en el lado "T" se considera positiva. No interprete la decoloración de la membrana como un resultado positivo. Un resultado positivo indica la presencia del antígeno de *E. histolytica* y que hay una línea de control positivo debidamente reactiva.

3. **Resultado negativo:** Se ve una línea azul vertical única en el lado "C" (izquierdo) de la Ventana de reacción y no hay línea de prueba visible en el lado "T" de la Ventana de reacción. Un resultado negativo indica que el antígeno de *E. histolytica* está ausente de la muestra o está por debajo del límite de detección de la prueba y que hay una línea del control positivo debidamente reactiva.
4. **Resultado no válido:** Se observa una sola línea en el lado "T" de la Ventana de reacción o no se observan líneas en la Ventana de reacción. El test no es válido si no se encuentra presente una línea de control al terminar la reacción de la prueba.

CONTROL DE CALIDAD

La validez de los resultados al usar el test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* depende de la reacción adecuada de los controles internos y externos.

Interno: Debe observarse una línea azul vertical de control en el lado "C" de la Ventana de reacción en cada Dispositivo de membrana. Esto confirma que la muestra y los reactivos se añadieron correctamente y reaccionaron adecuadamente en el ensayo. Un fondo transparente en el área de resultados se considera como un control negativo interno. Puede aparecer de color blanco a azul claro y cualquier línea desarrollada será claramente visible.

Externo: La reactividad del test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* debe comprobarse a la recepción usando el Control positivo y el control negativo (Diluyente). El Control positivo se utiliza para verificar la reactividad de los demás reactivos del ensayo y su objetivo no es asegurar la precisión del punto de corte del ensayo. Pueden realizarse tests adicionales con los controles para cumplir los requisitos administrativos locales, regionales o federales y los de los organismos de acreditación.

LIMITACIONES

1. Un resultado negativo del test no descarta la posibilidad de la presencia de adhesina de *E. histolytica* en la muestra, lo que puede producirse si el nivel de antígeno está por debajo del límite de detección de la prueba.
2. El test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* es cualitativo. La intensidad del color no debe interpretarse cuantitativamente.

VALORES ESPERADOS

Las personas sanas no deberían estar infectadas por *E. histolytica* y deberían dar un resultado negativo en el ensayo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Un resultado positivo en el ensayo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* indica que en las heces de la persona hay cantidades detectables de antígeno de *E. histolytica*. La incidencia de infección por *E. histolytica* varía significativamente entre diferentes poblaciones y regiones geográficas. Se estima que *Entamoeba histolytica* infecta a unos 50 millones de personas en todo el mundo (2). Casi el 90 % de estas personas no presenta síntomas, mientras que aproximadamente el 10 % desarrolla síntomas clínicos que abarcan desde trastornos gastrointestinales hasta abscesos hepáticos. En los grupos de alto riesgo se incluyen a personas que han viajado al extranjero, inmigrantes, personas inmunocomprometidas, trabajadores extranjeros y varones homosexuales activos (2, 3). Las cepas no patógenas (*E. dispar*) son las predominantes entre los hombres homosexuales (4). Con frecuencia la enfermedad se transmite a través de portadores asintomáticos de *E. histolytica*.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se comparó el rendimiento del ensayo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* con el del ensayo *E. HISTOLYTICA II* y el ensayo Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica*, resolviéndose las muestras discrepantes mediante RCP. Las muestras fecales incluyeron 449 muestras congeladas. Se dispuso de información sobre edad

de 350 pacientes. De los 350 pacientes, 87% eran < 18 años. Se dispuso de información sobre sexo de 424 pacientes y el 46% eran varones y el 54% eran mujeres. La Tabla 1 muestra un resumen del rendimiento clínico del ensayo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* en los 3 centros.

Tabla 1. Resumen del rendimiento clínico comparando el ensayo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* con el ensayo *E HISTOLYTICA II* y con el ensayo Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica*.

n = 449	Positivo en <i>E. HISTOLYTICA II</i>	Negativo en <i>E. HISTOLYTICA II</i>
Positivo en <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i>	94	3
Negativo en <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i>	3	349

		Intervalo de confianza del 95%
Concordancia positiva	96,9%	90,6% - 99,2%
Concordancia negativa	99,1%	97,3% - 99,8%
Concordancia global	98,7%	98,5% - 98,9%
*Resuelto por RCP – Concordancia global	99,6%	99,6% - 99,6%

n = 449	Positivo en ProSpec™ <i>E. histolytica</i>	Negativo en ProSpec™ <i>E. histolytica</i>
Positivo en <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i>	87	10
Negativo en <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i>	24	328

		Intervalo de confianza del 95%
Concordancia positiva	78,4%	69,4% - 85,4%
Concordancia negativa	97,0%	94,5% - 98,5%
Concordancia global	92,4%	91,0% - 93,6%
*Resuelto por RCP – Concordancia global	99,3%	99,2% - 99,4%

*Las 40 muestras discrepantes se resolvieron mediante purificación del ADN de las muestras fecales y amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (RCP) de *E. histolytica*, *E. dispar* y *E. moshkovskii*.

Para las 6 muestras discrepantes entre *E. HISTOLYTICA II* y *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: Las 3 muestras positivas mediante *E. HISTOLYTICA II* y negativas mediante *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* incluyeron 2 positivas para RCP de *E. histolytica* y 1 negativa para RCP de *E. histolytica*. Las 3 muestras negativas mediante *E. HISTOLYTICA II* y positivas mediante *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* fueron positivas para RCP de *E. histolytica*.

En las 34 muestras discrepantes entre el Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* y el *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: Las 24 muestras positivas mediante Remel™ ProSpec™ y negativas mediante *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* incluyeron 3 muestras positivas para *E. histolytica* por RCP, 13 positivas en RCP para *E. dispar* y 8 negativas en RCP para *Entamoeba*. Las 10 muestras negativas mediante Remel™ ProSpec™ y positivas mediante *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* fueron positivas en RCP para *E. histolytica*.

REPRODUCIBILIDAD

Se determinó la reproducibilidad del ensayo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* usando 12 muestras fecales que se codificaron para impedir su identificación durante la realización del ensayo. Las pruebas se realizaron en 2 laboratorios independientes e in situ en TECHLAB®, Inc. Las muestras se estudiaron dos veces al día a lo largo de un periodo de 5 días por parte de múltiples clínicos en cada centro, usando 2 lotes diferentes del kit. Se estudió un control positivo y negativo con cada panel de las muestras enmascaradas. Los resultados de cada laboratorio se remitieron posteriormente a TECHLAB®, Inc. y se compararon con resultados internos. Los resultados fueron coherentes entre las diferentes localizaciones y mostraron una correlación del 100%. Las muestras produjeron los resultados esperados en todos los casos.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se evaluó la reactividad cruzada de la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* con las cepas bacterianas y víricas enumeradas a continuación. Ninguna de las cepas mostró interferencia con el rendimiento de la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC	(de Cowan)
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Clostridium bifementans</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Adenovirus, 2, 5, 40, 41	Adenovirus humano 1, 3	Enterovirus humano 69, 70, 71
Coxsackievirus B5	Coronavirus humano	Parechovirus humano 1
Echovirus 11, 18, 22, 33	Coxsackievirus humano B2, B3, B4	[Echovirus 22]
Enterovirus 68, 69	Echovirus humano 9	Rotavirus humano

Además, el ensayo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* se realizó en muestras fecales documentadas como positivas para otros parásitos mediante microscopía. No se observó reactividad cruzada con los siguientes organismos.

Entamoeba coli

Entamoeba dispar

Entamoeba moshkovskii

Ascaris lumbricoides, huevos

Blastocystis hominis

Chilomastix mesnili

Especies de *Cyclospora*

Endolimax nana

Especies de *Giardia*

Hymenolepis nana

Anquilostoma, huevos

Iodamoeba bütschlii

Trichomonas hominis

Trichuris trichiura, huevos

SUSTANCIAS INTERFERENTES (formulaciones de EE.UU.)

Las siguientes sustancias no tuvieron ningún efecto en los resultados positivos o negativos de la prueba analizados a las concentraciones indicadas: mucina gástrica de cerdo (3.5% p/v), sangre humana (40% v/v), hidrocortisona (40% v/v), Sulfato de bario (5% p/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Maalox® Advanced (5% v/v), ácido estérico (40% p/v), ácido palmítico (40% p/v), metronidazol (0,25% p/v), fenilefrina (40% p/v), naproxeno sódico (40% p/v), Nonoxinol-9 (40% v/v), vancomicina (0,25% p/v), Priolsec OTC® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), Tagamet® (5 µg/ml), ciprofloxacino (0,25% p/v), Mylanta® (4,2 mg/ml) y orina humana (5% v/v).

PRECISIÓN – INTRAANALÍTICA

Para la determinación del rendimiento intraanalítico, se analizaron doce muestras fecales humanas mediante el ensayo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. De estas doce muestras, seis fueron positivas para *E. histolytica* de niveles variados (bajos, moderados y altos) y seis fueron negativas para *E. histolytica*. Se ensayó cada muestra cinco veces en la misma tanda, usando dos lotes de kit diferentes. Se estudió un control positivo y negativo con cada panel. Todas las muestras positivas seguían siendo positivas y todas las muestras negativas seguían siendo negativas.

PRECISIÓN – INTERANALÍTICA

Para la determinación del rendimiento interanalítico, se analizaron doce muestras fecales humanas mediante el ensayo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. De estas doce muestras, seis fueron positivas para *E. histolytica* de niveles variados (bajos, moderados y altos) y seis fueron negativas para *E. histolytica*. Las muestras se estudiaron dos veces al día, por parte de múltiples técnicos, durante un periodo de 12 días usando 2 lotes de kits diferentes. Se estudió un control positivo y negativo cada día. Todas respuestas positivas seguían siendo positivas y todas las muestras negativas seguían siendo negativas.

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

Se estableció el límite de detección (LdD) para el ensayo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* en una concentración de 0,2 ng/ml para la adhesina de *E. histolytica*.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

VERWENDUNGSZWECK

Der TECHLAB® HISTOLYTICA QUIK CHEK™ Test ist ein Membranenzym-Immunschnelltest für den qualitativen Nachweis von Adhäsion an *Entamoeba histolytica* in einer Einweg-Kassette. Er dient als Hilfsmittel bei der Diagnose von *E. histolytica*-bedingten Magen-Darm-Infektionen in Stuhlproben von Patienten mit Durchfall oder Ruhr. Die Testergebnisse sind gemeinsam mit der Patientenanamnese zu betrachten.

ERKLÄRUNG

Entamoeba histolytica und *Entamoeba dispar* sind Darmparasiten, mit denen sich etwa eine halbe Milliarde Menschen weltweit pro Jahr infizieren (1). Eine Unterscheidung der beiden Spezies ist erforderlich, da *E. histolytica* pathogen ist und intestinale Amöbiasis (z.B. Durchfall, Ruhr, Colitis) sowie extraintestinale Amöbiasis (z.B. Leberabszess) verursacht. *E. dispar* wird nicht mit einer symptomatischen Erkrankung assoziiert und eine falsche Diagnose kann zu einer unnötigen Behandlung führen. Als gängigste Methode zur Diagnose von Amöbiasis galt das mikroskopische Nasspräparat, das sich jedoch durch schlechte Sensitivität und Spezifität auszeichnet. Trophozoiten und Zysten sind in einer einzelnen Stuhlprobe nicht leicht zu erkennen und eine visuelle Unterscheidung zwischen *E. dispar* und *E. histolytica* bei der Beobachtung ist schwer. Der Nachweis von *Entamoeba* spp. mittels Immunoassay stellt ein alternatives Diagnoseverfahren mit höherer Sensitivität dar (2). Für *E. histolytica* spezifische Immunoassays wie der *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Test bieten zudem den zusätzlichen Vorteil einer ausschließlichen Identifizierung von *E. histolytica*-Infektionen. Große Probenmengen können rasch und objektiv getestet werden, und das Verfahren ist weniger arbeitsaufwändig als die meisten anderen Diagnosemethoden.

TESTPRINZIP

Der *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Test basiert auf spezifischen Antikörpern für *E. histolytica*. Die Testkarte verfügt über ein Reaktionsfenster mit zwei vertikalen Linien immobilisierter Antikörper. Die Testlinie („T“) enthält monoklonale spezifische Antikörper für *E. histolytica*-Adhäsion. Die Kontrolllinie („C“) enthält Antikörper gegen Meerrettich-Peroxidase (MRP). Das Konjugat besteht aus an Meerrettich-Peroxidase gebundenen Antikörpern gegen *E. histolytica*. Zur Durchführung des Tests wird die Probe einem Reagenzglas mit einer Mischung aus Verdünnungspuffer und Konjugat hinzugefügt. Die verdünnte Proben-Konjugat-Mischung wird in die Probenverföhrung gegeben und die Testkarte bei Raumtemperatur 15 Minuten inkubiert. Während der Inkubation bindet in der Probe vorhandenes *E. histolytica*-Adhäsion an das Antikörper-Peroxidase-Konjugat. Die Antigen-Antikörper-Peroxidase-Komplexe migrieren durch ein Filterpad zu einer Membran, wo sie von den immobilisierten Anti-Adhäsion-Antikörpern auf der Linie eingefangen werden. Anschließend wird das Reaktionsfenster mit Waschpuffer gewaschen und Substrat zugegeben. Nach 10-minütiger Inkubation wird das Reaktionsfenster mittels Sichtkontrolle auf das Erscheinen von vertikalen blauen Linien auf der „C“- und „T“-Seite des Reaktionsfensters untersucht. Eine blaue Linie auf der „T“-Seite des Reaktionsfensters weist auf ein positives Ergebnis hin. Eine positive „C“-Reaktion, angezeigt durch eine vertikale blaue Linie auf der „C“-Seite des Reaktionsfensters, bestätigt, dass die Probe und Reagenzien korrekt hinzugefügt wurden, die Reagenzien während des Testverlaufs aktiv waren und eine korrekte Probenmigration durch die Testkarte stattgefunden hat. Sie bestätigt zudem die Reaktivität der anderen Reagenzien des Tests.

DE

PACKUNGSGEHALT

MEM DEV

Testkarten – Jeder Beutel enthält 1 Testkarte

CONJ ENZ

Konjugat (2 ml) – Spezifischer Antikörper für *E. histolytica*, gebunden an Meerrettich-Peroxidase, in einer gepufferten Proteinlösung

DIL SPE

Verdünnungspuffer (16 ml) – Gepufferte Proteinlösung mit schwarzem gradiertem Tropfer

CONTROL +

Positive Kontrolle (1 ml) – *E. histolytica* -Antigen in einer gepufferten Proteinlösung

SUBS REAG

Substrat (3,5 ml) – Lösung mit Tetramethylbenzidin

WASH REAG

Waschpuffer (12 ml) – Gepufferte Lösung mit weißem gradierten Tropfer

Gradierte Einweg-Kunststoffpipetten (50) – 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl und 500 µl

IVD

Medizinprodukt für die In-Vitro-Diagnostik

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL (NICHT ENTHALTEN)

Reagenzröhrchen (z.B. Mikrozentrifugenröhrchen aus Kunststoff) Applikatorstäbchen aus Holz
Einweghandschuhe Pipettierer und Pipettenspitzen Timer

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum des Testkits ist auf dem Packungsetikett angegeben. Lagern Sie das Kit zwischen 2°C und 8°C. Nach dem Gebrauch so schnell wie möglich wieder in den Kühlschrank geben.

VORSICHTSMASSNAHMEN

- Bei Erhalt des Kits muss sichergestellt werden, dass die Bestandteile nicht wegen unsachgemäßer Transportbedingungen gefroren oder zu warm sind und keine Anzeichen von Undichtigkeit vorhanden sind.
- Lassen Sie alle Bestandteile vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen, um eine ordnungsgemäße Reaktivität des Kits sicherzustellen.
- Das Substratreagens muss farblos sein. Sollte das Substratreagens eine dunkelblaue/violette Färbung annehmen, so wenden Sie sich bitte an den Kundendienst für einen Ersatz.
- Reagenzien aus verschiedenen Kits nicht mischen oder miteinander vertauschen. Verwenden Sie das Testkit nicht nach dem Verfallsdatum.
- Verschlüsse, Spitzen und Tropfer sind farbmarkiert; NICHT mischen oder vertauschen!
- Verwenden Sie die Stuhlproben nach der Entnahme innerhalb von 72 Stunden, um optimale Ergebnisse zu erzielen. Gefrorene Proben können aufgrund des Einfrier- und Auftauvorgangs Reaktivitätsverluste aufweisen.
- Der Test wurde in Bezug auf Sensitivität und Spezifität optimiert. Abweichungen vom angegebenen Verfahren und/oder Änderungen der Testbedingungen können die Sensitivität und Spezifität des Tests beeinflussen. Halten Sie sich genau an die Anweisungen.

8. Stuhlproben und gebrauchte Testkarten können potenzielle Infektionserreger enthalten und sind wie im CDC/NIH-Handbuch „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ (Biosicherheit in mikrobiologischen und biomedizinischen Labors) empfohlen nach „Biosicherheitsstufe 2“ zu handhaben. Tragen Sie während der Durchführung des Tests Schutzhandschuhe.
9. Für die *in-vitro*-Diagnostik.

ENTNAHME, HANDHABUNG UND LAGERUNG VON STUHLPROBEN

Akzeptable Probentypen	Nicht verwenden
Frische Stuhlproben	Stuhlproben in Fixiermittel auf Formalinbasis (z.B. Natriumacetat-Formalin, Formalin 10 %)
Gefrorene Stuhlproben (gefroren unverdünnt)	Stuhlproben in Fixiermittel auf Alkoholbasis (z.B. Polyvinylalkohol)
	Stuhlproben in Transportmedien (z.B. Cary Blair)

1. Verwenden Sie die üblichen internen Methoden zur Entnahme und Handhabung von Stuhlproben. Für die Entnahme der Stuhlproben sind saubere, dichte Behälter zu verwenden.
2. Frische Stuhlproben können bis zu 72 Stunden zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden. Frieren Sie die Proben bei ≤ -10°C ein, wenn der Test nicht innerhalb von 72 Stunden nach der Entnahme durchgeführt werden kann. Nach Möglichkeit sollten die Stuhlproben beim Test weniger als 24 Stunden alt sein.
3. Wiederholtes Einfrieren/Auftauen ist zu vermeiden. Gefrorene Proben bei Raumtemperatur auftauen.
4. Stuhlproben nicht im *Verdünnungspuffer* lagern.

TESTVERFAHREN

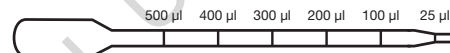
1. Achten Sie beim Testen mehrerer Stuhlproben auf die Gesamttestzeit.
2. Lassen Sie alle Reagenzien und Testkarten vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen. Nehmen Sie die Reagenzien aus dem Schaumstoffeinsatz, um die Aufwärmzeit zu verkürzen.
3. **Verwenden Sie für jede Stuhlprobe und jede zusätzliche externe Kontrolle ein eigenes Reagenzröhrchen und kennzeichnen Sie es.**
4. **Geben Sie mit dem schwarzen graduierten Tropfer 500 µl *Verdünnungspuffer* in jedes Reagenzglas.**

Probentyp	Menge <i>Verdünnungspuffer</i>
Frische Stuhlproben	500 µl
Gefrorene Stuhlproben (gefroren unverdünnt)	500 µl



5. **Fügen Sie jedem Reagenzglas einen Tropfen *Konjugat* (Flasche mit rotem Verschluss) hinzu.** Halten Sie die Tropfflasche senkrecht, um die richtige Tropfengröße sicherzustellen. Der *Verdünnungspuffer* und das *Konjugat* sollten allen Reagenzgläsern vor den Proben hinzugefügt werden.
6. Sie benötigen 1 Einweg-Kunststofftransferpipette (im Lieferumfang enthalten) für jede Probe.

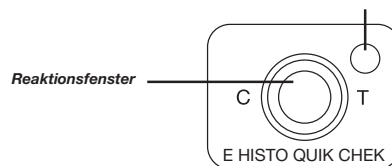
Graduierte Transferpipette:



7. **Flüssige/halbfeste Proben** - Proben gründlich mischen. Geben Sie mithilfe einer Transferpipette 25 µl Probe in die *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung in dem Reagenzglas.
Feste Stuhlproben - Mischen Sie die Probe gründlich mithilfe eines Applikatorstäbchens durch und übertragen Sie eine kleine Probenmenge (ca. 2 mm Durchmesser, entspricht der Menge von 25 µl) in die *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung. Emulgieren Sie die Probe mit dem Applikatorstäbchen.
HINWEIS: Ist die übertragene Probenmenge zu gering oder wird die Probe in der Verdünnungspuffer/Konjugat-Mischung nicht ausreichend gemischt und vollständig suspendiert, kann dies zu einem falsch-negativen Testergebnis führen. Eine zu große Probenmenge kann aufgrund des beeinträchtigten Probenflusses zu ungültigen Ergebnissen führen.
8. **Optionale externe Kontrollen:**
Externe positive Kontrolle – geben Sie einen Tropfen *Positive Kontrolle* (Flasche mit grauem Verschluss) in das entsprechende Reagenzglas.
Externe Negative Kontrolle - geben Sie 25 µl *Verdünnungspuffer* in das entsprechende Reagenzglas.
9. Verschließen Sie die Röhrchen mit allen Test- und Kontrollproben und mischen Sie diese gründlich mit einem Vortex-Schüttler oder durch mehrmaliges Umdrehen der Röhrchen. In der *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung verdünnte Proben bzw. Kontrollen können vor der Zugabe auf die Testkarte bis zu 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert werden.
10. Öffnen Sie je einen raumtemperierten Beutel mit einer *Testkarte* pro verdünnter Probe und externer Kontrolle (je nach Bedarf). Beschriften Sie jede Karte ordnungsgemäß und legen Sie sie so auf eine flache Oberfläche, dass sich der Aufdruck „E HISTO QUIK CHEK“ unten auf der Karte und die kleine *Probenvertiefung* in der rechten oberen Ecke der Karte befinden.

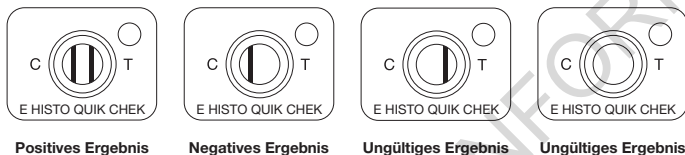
Testkarte

Probenvertiefung



- Vergewissern Sie sich, dass jede verdünnte Probe gründlich gemischt wurde (siehe Schritt 9), bevor Sie sie auf die **Testkarte** geben. **Übertragen Sie mithilfe einer neuen Transferpipette 500 µl (oberste Markierung) eines jeden Reagenzglases in die Probenvertiefung (kleineres Loch in der oberen rechten Ecke der Karte) einer Testkarte.** Achten Sie beim Übertragen der Probe in die **Probenvertiefung** darauf, dass sich die Spitze der Transferpipette im **Probenvertiefungsloch** befindet und auf das **Reaktionsfenster** zeigt. Setzen Sie die verdünnte Probe auf das Wicking-Pad im Inneren der **Testkarte** frei.
- Inkubieren Sie die Testkarte 15 Minuten bei Raumtemperatur** – die Probe sickert durch die Karte, und eine Fleckstelle breitet sich im **Reaktionsfenster** aus. Der 15-minütige Inkubationsschritt beginnt nach Übertragung der letzten verdünnten Proben-Konjugat-Mischung auf die letzte **Testkarte**.
HINWEIS FÜR PROBEN, DIE NICHT MIGRIEREN:
Gelegentlich migriert eine verdünnte Probe nicht richtig und das Reaktionsfenster wird nicht vollständig befeuchtet. Wenn das Reaktionsfenster nicht innerhalb von 5 Minuten nach dem Hinzufügen der Probe in die Probenvertiefung vollständig feucht erscheint, geben Sie 100 µl (4 Tropfen) Verdünnungspuffer in die Probenvertiefung und warten weitere 5 Minuten (insgesamt 20 Minuten lang). Gehen Sie zum nächsten Schritt des Testverfahrens über.
- Nach der Inkubation geben Sie 300 µl Waschpuffer in das Reaktionsfenster in der Mitte. Verwenden Sie dazu den graduierten weißen Tropfer.** Warten Sie, bis der Waschpuffer vollständig absorbiert ist.
- Geben Sie 2 Tropfen Substrat (Flasche mit weißem Verschluss) auf das Reaktionsfenster in der Mitte.**
- 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. Lesen Sie die Ergebnisse nach der Inkubation visuell ab und protokollieren Sie sie.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE



HINWEIS: Die externen Kontrollen sind nur für grobe systematischer Fehler vorgesehen. Wenn die erwarteten Ergebnisse mit den positiven und negativen Kontrollen nicht erzielt werden, so bedeutet dies möglicherweise, dass die Kontrollen selbst nicht korrekt funktionieren.

- Die Interpretation des Tests ist am verlässlichsten, wenn die Ergebnisse sofort nach Ende der Reaktionszeit in einer gut beleuchteten Umgebung direkt über der Testkarte bei normalem Arbeitsabstand abgelesen werden.

- Positives Ergebnis:** Zwei vertikale blaue Linien sind sichtbar, die Kontrolllinie auf der „C“-Seite des **Reaktionsfensters** (links) und die Testlinie auf der „T“-Seite des **Reaktionsfensters** (rechts). Die Farbsintensität der Linien kann schwach bis stark sein – eine Linie auf der „T“-Seite gilt in jedem Falle als positiv. Interpretieren Sie eine Membranverfärbung nicht als positives Ergebnis. Ein positives Ergebnis zeigt an, dass *E. histolytica*-Antigen und eine ordnungsgemäß reaktive positive Kontrolllinie vorhanden sind.
- Negatives Ergebnis:** Eine einzelne blaue vertikale Linie ist auf der „C“-Seite (links) des **Reaktionsfensters** sichtbar und es ist keine Testlinie auf der „T“-Seite des **Reaktionsfensters** sichtbar. Ein negatives Ergebnis weist darauf hin, dass entweder kein *E. histolytica* -Antigen in der Probe vorhanden ist oder die Konzentration unter der Nachweisgrenze des Tests liegt und eine ordnungsgemäß reaktive positive Kontrolllinie vorhanden ist.
- Ungültiges Ergebnis:** Eine einzelne Linie ist auf der „T“-Seite des **Reaktionsfensters** sichtbar oder keine Linien sind im **Reaktionsfenster** sichtbar. Wenn auf der Testkarte nach abgeschlossener Reaktion keine Kontrolllinie sichtbar, ist der Test ungültig.

QUALITÄTSKONTROLLE

Die Gültigkeit der Testergebnisse des *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Tests hängt von der ordnungsgemäßen Reaktion der internen und externen Kontrollen ab.

Intern: Auf jeder **Testkarte** muss nach dem Test eine vertikale blaue Kontrolllinie auf der „C“-Seite des **Reaktionsfensters** sichtbar sein. Dies bestätigt, dass die Probe und Reagenzien korrekt hinzugefügt wurden und eine ordnungsgemäße Reaktion stattgefunden hat. Ein farbloser Hintergrund im Ergebnisbereich gilt als interne negative Kontrolle. Er kann weiß bis hellblau sein und jede Linie ist klar sichtbar.

Extern: Die Reaktivität des *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Tests muss bei Erhalt anhand der **positiven Kontrolle** und der **negativen Kontrolle (Verdünnungspuffer)** überprüft werden. Die **positive Kontrolle** dient zur Überprüfung der Reaktivität der anderen Testreagenzien und ist nicht zur Bestätigung der Präzision beim analytischen Cut-off des Tests bestimmt. Es können auch weitere Tests mit den Kontrollen durchgeführt werden, um die Anforderungen lokaler, landes- und/oder bundesweiter Vorschriften und/oder von Zertifizierungsbehörden zu erfüllen.

GRENZEN DES VERFAHRENS

- Ein negatives Testergebnis schließt die Möglichkeit eines Vorhandenseins von *E. histolytica*-Adhäsion in der Probe nicht aus, sondern kann bedeuten, dass die Antigenkonzentration unter der Nachweisgrenze des Tests liegt.
- Der *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Test ist qualitativ. Die Farbsintensität darf nicht quantitativ interpretiert werden.

ERWARTUNGSWERTE

Normale, gesunde Personen sollten nicht mit *E. histolytica* infiziert sein und beim *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Test ein negatives Ergebnis liefern. Ein positives Ergebnis beim *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Test weist darauf hin, dass die Person nachweisbare Konzentrationen von *E. histolytica* -Antigen ausschüttet. Die Häufigkeit von *E. histolytica* -Infektionen variiert beträchtlich je nach Population und geografischer Region. Schätzungen gehen davon aus, dass weltweit etwa 50 Millionen Personen mit *Entamoeba histolytica* infiziert sind (2). Etwa 90 % dieser Personen bleiben asymptomatisch, während bei 10 % klinische Symptome auftreten, die von Magen-Darm-Erkrankungen bis zu Leberabszessen reichen können. Hochrisikogruppen sind Personen, die Auslandsreisen unternommen haben, Immigranten, immungeschwächte Patienten, Gastarbeiter und aktive männliche Homosexuelle (2, 3). Nichtpathogene Stämme (*E. dispar*) sind bei männlichen Homosexuellen vorherrschend (4). Die Krankheit wird häufig durch asymptomatische Träger von *E. histolytica* übertragen.

LEISTUNGSDATEN

Die Leistung des *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Tests wurde mit dem *E. HISTOLYTICA II* Test und Remel™ ProSpecT™ *Entamoeba histolytica* Test verglichen. Abweichende Proben wurden mittels PCR geprüft. Die Stuhlproben bestanden aus 449 gefrorenen Proben. Daten zum Alter waren für 350 Patienten verfügbar. Von den 350 Patienten waren 87 % unter 18 Jahren. Daten zum Geschlecht waren für 424 Patienten verfügbar, 46 % waren männlich und 54 % weiblich. Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die klinische Leistung des *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Test an allen 3 Standorten.

Tabelle 1. Übersicht über die klinische Leistung des *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Tests im Vergleich zum *E. HISTOLYTICA II* Test und Remel™ ProSpecT™ *Entamoeba histolytica* Test.

Az = 449	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Positiv	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Negativ
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Positiv	94	3
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Negativ	3	349

	95 % Konfidenzintervall	
Positive Übereinstimmung in %	96,9 %	90,6 % - 99,2 %
Negative Übereinstimmung in %	99,1 %	97,3 % - 99,8 %
Gesamtübereinstimmung in %	98,7 %	98,5 % - 98,9 %
*Mittels PCR geprüft – Gesamtübereinstimmung	99,6 %	99,6 % - 99,6 %

Az = 449	ProSpecT™ <i>E. histolytica</i> Positiv	ProSpecT™ <i>E. histolytica</i> Negativ
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Positiv	87	10
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Negativ	24	328

	95 % Konfidenzintervall	
Positive Übereinstimmung in %	78,4 %	69,4 % - 85,4 %
Negative Übereinstimmung in %	97,0 %	94,5 % - 98,5 %
Gesamtübereinstimmung in %	92,4 %	91,0 % - 93,6 %
*Mittels PCR geprüft – Gesamtübereinstimmung	99,3 %	99,2 % - 99,4 %

*Die 40 abweichenden Proben wurden durch Reinigung von DNA aus den Stuhlproben und Amplifikation mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) von *E. histolytica*, *E. dispar* und *E. moshkovskii* geprüft.

Ergebnisse für die 6 abweichenden Proben des *E. HISTOLYTICA II* und *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: Von den 3 Proben, die beim *E. HISTOLYTICA II* positiv und beim *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* negativ waren, lieferten 2 bei der PCR ein positives Ergebnis und 1 ein negatives Ergebnis für *E. histolytica*. Die 3 Proben, die beim *E. HISTOLYTICA II* negativ und beim *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* positiv waren, lieferten bei der PCR ein positives Ergebnis für *E. histolytica*.

Ergebnisse für die 34 abweichenden Proben des Remel™ ProSpecT™ *Entamoeba histolytica* Tests und *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: Von den 24 Proben, die beim Remel™ ProSpecT™ positiv und beim *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* negativ waren, lieferten 3 ein positives Ergebnis für *E. histolytica* bei der PCR, 13 ein positives Ergebnis für *E. dispar* bei der PCR und 8 ein negatives Ergebnis für *Entamoeba* bei der PCR. Die 10 Proben, die beim Remel™ ProSpecT™ negativ und beim *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* positiv waren, lieferten bei der PCR ein positives Ergebnis für *E. histolytica*.

REPRODUZIERBARKEIT

Die Reproduzierbarkeit des *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Tests wurde anhand von 12 Stuhlproben bestimmt, die zur Verhinderung ihrer Identifizierung während des Tests kodiert wurden. Die Tests wurden in 2 unabhängigen Labors und intern bei TECHLAB®, Inc durchgeführt. Die Proben wurden über einen Zeitraum von 5 Tagen zweimal täglich von mehreren Laborkräften an den einzelnen Standorten getestet. Es wurden jeweils 2 verschiedene Kitchargen verwendet. Mit jeder maskierten Probenreihe wurden eine positive und eine negative Kontrolle mitgetestet. Die Ergebnisse der einzelnen Labors wurden anschließend an TECHLAB®, Inc. übermittelt und mit internen Ergebnissen verglichen. Die Ergebnisse der verschiedenen Standorte waren durchgehend konsistent und ergaben eine Korrelation von 100 %. Die Proben lieferten zu 100 % die erwarteten Ergebnisse.

KREUZREAKTIVITÄT

Der *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Test wurde auf Kreuzreaktivität mit den folgenden Bakterien- und Virenstämmen geprüft. Keiner dieser Stämme zeigte eine Kreuzreaktivität mit dem *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Test.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	
Adenovirus, 2, 5, 40, 41	Humanes Adenovirus 1, 3	Humanes Enterovirus 69, 70, 71
Coxsackievirus B5	Humanes Coronavirus	Humanes Parechovirus 1
Echovirus 11, 18, 22, 33	Humanes Coxsackievirus B2, B3, B4	[Echovirus 22]
Enterovirus 68, 69	Humanes Echovirus 9	Humanes Rotavirus

Zudem wurden Stuhlproben mit dem *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* getestet, die bei der Mikroskopie positiv für andere Parasiten waren. Es wurde keine Kreuzreaktivität mit den folgenden Organismen beobachtet.

Entamoeba coli

Entamoeba dispar

Entamoeba moshkovskii

Ascaris lumbricoides (Eier)

Blastocystis hominis

Chilomastix mesnili

Cyclospora spp.

Endolimax nana

Giardia spp.

Hymenolepis nana

Hakenwurm (Eier)

Iodamoeba bütschlii

Trichomonas hominis

Trichuris trichiura (Eier)

INTERFERIERENDE STOFFE (US-FORMULIERUNGEN)

Die folgenden Stoffe hatten in den angegebenen Konzentrationen keinen Einfluss auf die positiven oder negativen Testergebnisse: Mucin aus dem Schweinemagen (3,5 % w/v), menschliches Blut (40 % v/v), Hydrocortison (40 % v/v), Bariumsulfat (5 % w/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), Maalox® Advanced (5 % w/v), Stearinsäure (40 % w/v), Palmitinsäure (40 % w/v), Metronidazol (0,25 % w/v), Phenylephrin (40 % w/v), Naproxen-Natrium (40 % w/v), Nonoxynol-9 (40 % v/v), Vancomycin (0,25 % w/v), Priolsec OTC® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), Tagamet® (5 µg/ml), Ciprofloxacin (0,25 % w/v), Mylanta® (4,2 mg/ml) und menschlicher Harn (5 % v/v).

INTRA-ASSAY-PRÄZISION

Für die Bestimmung der Intra-Assay-Leistung wurden zwölf menschliche Stuhlproben mit dem *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Test untersucht. Von diesen zwölf Stuhlproben waren sechs in unterschiedlichem Grade positiv für *E. histolytica* (schwach, mäßig und stark) und sechs negativ für *E. histolytica*. Jede Probe wurde jeweils fünf Mal in einem Lauf getestet. Zwei verschiedene Kitchargen wurden verwendet. Eine positive und eine negative Kontrolle wurden mit jeder Probenreihe mitgetestet. Alle positiven Proben blieben positiv und alle negativen Proben negativ.

INTER-ASSAY-PRÄZISION

Für die Bestimmung der Inter-Assay-Leistung wurden zwölf menschliche Stuhlproben mit dem *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Test untersucht. Von diesen zwölf Stuhlproben waren sechs in unterschiedlichem Grade positiv für *E. histolytica* (schwach, mäßig und stark) und sechs negativ für *E. histolytica*. Die Proben wurden über einen Zeitraum von 12 Tagen 2x täglich von mehreren Laborkräften anhand von 2 verschiedenen Kitchargen getestet. Es wurden täglich eine positive und eine negative Kontrolle mitgetestet. Alle positiven Proben blieben positiv und alle negativen Proben negativ.

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Die Nachweisgrenze (NG) für den *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* Test wurde bei einer Konzentration von 0,2 ng/ml für *E. histolytica*-Adhäsine festgelegt.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

UTILISATION PRÉVUE

Le test TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ est un test immunoenzymatique sur membrane rapide pour la détection qualitative d'adhésine de l'*Entamoeba histolytica* dans une cassette à usage unique. Il est destiné à être utilisé sur des échantillons de selles de patients souffrant de diarrhées ou de dysenterie pour aider au diagnostic d'une infection gastro-intestinale due à l'E. histolytica. Les résultats obtenus doivent être évalués en association avec le dossier médical du patient.

EXPLICATION

L'*Entamoeba histolytica* et l'*Entamoeba dispar* sont des parasites intestinaux qui affectent environ 500 millions de personnes dans le monde entier chaque année (1). Il convient de distinguer les deux espèces car l'E. histolytica est pathogène, provoquant des amibiases intestinales (par exemple des diarrhées, une dysenterie, des colites) et des amibiases extra-intestinales (un abcès du foie par exemple). L'E. dispar n'est pas associé à une maladie symptomatique et un diagnostic imprécis peut entraîner des traitements inutiles. La méthode la plus couramment utilisée pour diagnostiquer une amibiase est la microscopie à l'état frais qui souffre d'une mauvaise sensibilité et d'une spécificité faible. Les trophozoïtes et les kystes ne sont pas faciles à identifier dans un seul échantillon de selles et il est visuellement difficile de distinguer l'E. dispar de l'E. histolytica lors de l'observation. La détection de l'*Entamoeba* spp. par immunoessai fournit une méthode alternative de diagnostic avec une sensibilité accrue (2). Les immunoessais spécifiques à l'E. histolytica tels que le test E. HISTOLYTICA QUIK CHEK donnent un avantage supplémentaire : ils permettent d'identifier uniquement les infections à l'E. histolytica. Ils permettent d'analyser rapidement et objectivement un grand nombre d'échantillons et la procédure requiert beaucoup moins de manipulation que la plupart des méthodes de diagnostic.

PRINCIPE DU TEST

Le test E. HISTOLYTICA QUIK CHEK utilise des anticorps spécifiques à l'E. histolytica. Le Dispositif à membrane comporte une Fenêtre de réaction avec deux bandes verticales d'anticorps immobilisés. La bande de test (« T ») contient des anticorps monoclonaux spécifiques à l'adhésine d'E. histolytica. La bande de contrôle (« C ») contient des anticorps anti-peroxydase de raifort (HRP). Le Conjugué est composé d'anticorps contre l'E. histolytica conjugués à la peroxydase de raifort. Pour réaliser le test, l'échantillon est placé dans un tube contenant un mélange de Diluant et de Conjugué. Le mélange conjugué-échantillon dilué est placé dans le Micropuits d'échantillon et le dispositif est soumis à une période d'incubation de 15 minutes à température ambiante. Pendant l'incubation, l'adhésine d'E. histolytica de l'échantillon se mélange au conjugué peroxydase-anticorps. Les complexes antigène-anticorps-peroxydase migrent à travers une rondelle filtrante vers une membrane où ils sont capturés par les anticorps anti-adhésine immobilisés sur la bande. La Fenêtre de réaction est ensuite lavée avec un Tampon de lavage, puis un Substrat est ajouté. Après une période d'incubation de 10 minutes, la Fenêtre de réaction est examinée visuellement afin de repérer les éventuelles bandes verticales bleues situées sur les côtés « C » et « T » de la Fenêtre de réaction. Une bande bleue sur le côté « T » de la Fenêtre de réaction indique un résultat positif. Une réaction « C » positive indiquée par une bande verticale bleue sur le côté « C » de la Fenêtre de réaction contrôle confirme que l'échantillon et des réactifs ont été ajoutés correctement, que les réactifs étaient actifs au moment de la réalisation de l'essai et que l'échantillon a correctement migré à travers le Dispositif à membrane. Il confirme également la réactivité des autres réactifs associés au test.

MATÉRIEL FOURNI

MEM DEV

Dispositifs à membrane – Un sachet contient 1 dispositif

CONJ ENZ

Conjugué (2 ml) – Anticorps spécifiques à l'E. histolytica conjugués à la peroxydase de raifort, dans une solution tamponnée et protéinée

DIL SPE

Diluant (16 ml) – Solution tamponnée et protéinée avec compte-gouttes gradué noir

CONTROL +

Contrôle positif (1 ml) – Antigène E. histolytica dans une solution tamponnée et protéinée

SUBS REAG

Substrat (3,5 ml) – Solution contenant du tétraméthylbenzidine

WASH REAG

Tampon de lavage (12 ml) – Solution tamponnée avec compte-gouttes gradué blanc

Pipettes en plastique jetables (50) – Graduées à 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl et 500 µl

IVD

Dispositif médical de diagnostic *In Vitro*

MATÉRIEL ET ÉQUIPEMENTS NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Petits tubes à essai (par exemple des tubes microcentrifuges en plastique)

Écouvillons en bois

Gants jetables

Pipeteur et embouts

Minuterie

DURÉE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date de péremption du kit est indiquée sur l'emballage. Stocker le kit à une température comprise entre 2 °C et 8 °C. Remplacer le kit au réfrigérateur dès que possible après utilisation.

PRÉCAUTIONS À PRENDRE

1. Examiner le kit à la réception afin de vérifier que les éléments ne sont ni congelés ni chauds au toucher suite à des conditions de transport inadéquates et vérifier l'absence de fuites.
2. Placer tous les composants à température ambiante avant utilisation afin de garantir la bonne réactivité du kit.
3. Le Substrat doit être incolore. Si le Substrat prend une couleur bleu foncé/violet, le jeter et appeler les services techniques pour procéder à un remplacement.
4. Les réactifs des différents kits ne doivent pas être mélangés ou interchangés. Ne pas utiliser de kit dont la date d'expiration serait dépassée.
5. Les capsules, les embouts et les compte-gouttes sont classés par couleur. Ne PAS les mélanger ni les interchanger !
6. Utiliser les échantillons de selles dans les 72 heures qui suivent le prélèvement, et ce afin d'obtenir les meilleurs résultats possibles. Les échantillons congelés risquent d'être moins réactifs après un cycle congélation-décongélation.

- Le test a été optimisé dans le sens de la sensibilité et de la spécificité. Toute modification de la procédure spécifiée et/ou des conditions de test peut altérer la sensibilité et la spécificité du test. Procéder conformément à la procédure spécifiée.
- Les échantillons de selles et les dispositifs à membrane utilisés peuvent contenir des agents potentiellement infectieux et doivent être manipulés selon le « Niveau de biosécurité 2 », comme le recommande le manuel du CDC/NIH, « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories ».
- Utiliser des gants jetables pour effectuer le test.
- Pour une utilisation diagnostique *in vitro*.

PRÉLÈVEMENT, MANIPULATION ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS DE SELLES

Types d'échantillons acceptables
Échantillons de selles frais
Échantillons de selles congelés (non dilués)

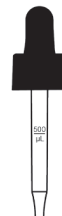
Ne pas utiliser
Échantillons de selles fixés au formol (par ex. du formol à base d'acétate de sodium, formol à 10 %)
Échantillons de selles fixés à l'alcool (par ex. de l'alcool polyvinyle)
Échantillons de selles en milieu de transport (Cary Blair par exemple)

- Respecter les procédures standard internes utilisées sur place pour le prélèvement et la manipulation des échantillons de selles. Prélever les échantillons de selles dans des contenants propres et étanches.
- Conserver les échantillons de selles frais à une température comprise entre 2 °C et 8 °C jusqu'à 72 heures. Congeler et stocker les échantillons à une température ≤ -10 °C si le test ne peut être réalisé dans un délai de 72 heures après le prélèvement. Prélèvements de moins de 24 heures si possible.
- Éviter la répétition des cycles de congélation/décongélation. En cas d'utilisation d'échantillons congelés, les décongeler à température ambiante.
- Ne pas stocker les échantillons de selles dans le *Diluant*.

PROCÉDURE DE TEST

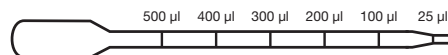
- Surveiller la durée totale de l'analyse si plusieurs échantillons de selles sont testés.
- Porter tous les réactifs et dispositifs à température ambiante avant utilisation. Éliminer les réactifs du coussin en mousse afin de réduire le temps nécessaire au réchauffement à température ambiante.
- Préparer et étiqueter un petit tube à essai pour chaque échantillon et pour chaque contrôle externe.
- Verser 500 µl de *Diluant* dans chaque tube à l'aide du compte-gouttes gradué noir.

Type d'échantillon	Volume de <i>Diluant</i>
Échantillons de selles frais	500 µl
Échantillons de selles congelés (non dilués)	500 µl



- Verser une goutte de *Conjugué* (bouteille à capsule rouge) dans chaque tube. Tenir le compte-gouttes à la verticale de façon à dispenser des gouttes de taille adaptée. Le *Diluant* et le *Conjugué* doivent être versés dans tous les tubes avant les échantillons.
- Se munir d'une pipette de transfert en plastique jetable (fournie dans le kit) pour chaque échantillon.

Pipette de transfert graduée :



- Pour les échantillons liquides/semi-solides** - Mélanger complètement l'échantillon. À l'aide d'une pipette de transfert, ajouter 25 µl d'échantillon au mélange *Diluant/Conjugué* dans le tube.

Pour les échantillons formés/solides - Mélanger complètement l'échantillon à l'aide d'un écouvillon en bois et transférer un petit fragment (de 2 mm de diamètre environ, équivalent à 25 µl) de l'échantillon dans le mélange de *Diluant/Conjugué*. Émulsionner l'échantillon à l'aide de l'écouvillon.

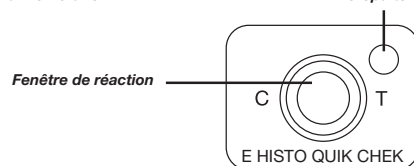
REMARQUE : si le fragment transféré est trop petit, si le mélange est défectueux ou si l'échantillon n'est pas complètement mis en suspension dans le mélange *Diluant/Conjugué*, les résultats obtenus peuvent se révéler faussement négatifs. Une trop grande quantité d'échantillon peut donner des résultats invalides à cause du débit limité.
- Contrôles externes facultatifs :**

Contrôle positif externe - Verser une goutte de *Contrôle positif* (bouteille à capsule grise) dans le tube à essai approprié.

Contrôle négatif externe - Verser 25 µl de *Diluant* dans le tube à essai approprié.
- Pour tous les échantillons de test et de contrôle, fermer les tubes et mélanger complètement à l'aide d'un agitateur vortex ou en retournant plusieurs fois le tube. Les échantillons ou contrôles dilués dans le mélange *Diluant/Conjugué* peuvent être incubés à température ambiante jusqu'à 2 heures avant de pouvoir être ajoutés au *Dispositif à membrane*.
- Ouvrir un sachet contenant un *Dispositif à membrane* à température ambiante pour chaque échantillon dilué et chaque contrôle externe (si nécessaire). Étiqueter chaque dispositif correctement et l'orienter sur une surface plane de façon à ce que la mention « E HISTO QUIK CHEK » apparaisse au bas du dispositif et à ce que le *Micropuits d'échantillon* soit placé dans l'angle supérieur droit du dispositif.

Dispositif à membrane

Micropuits d'échantillon



- Veiller à mélanger complètement chaque échantillon dilué (voir l'étape 9) avant de l'ajouter au Dispositif à membrane. À l'aide d'une nouvelle pipette de transfert, transférez 500 µl (la graduation supérieure) depuis chaque tube dans le **Micropuits d'échantillon** (le trou le plus petit dans l'angle supérieur droit du dispositif) d'un **Dispositif à membrane**. Lors de l'ajout au Micropuits d'échantillon, vérifiez que la pointe de la pipette de transfert se trouve à l'intérieur du Micropuits d'échantillon et soit inclinée vers la Fenêtre de réaction. Expulser l'échantillon dilué sur la garniture perméable située à l'intérieur du Dispositif à membrane.
 - Laisser incuber le dispositif à température ambiante pendant 15 minutes – L'échantillon sera absorbé par le dispositif et une zone humide apparaîtra dans la Fenêtre de réaction. L'étape d'incubation de 15 minutes commence lorsque le dernier mélange conjugué-échantillon dilué est transféré sur le dernier Dispositif à membrane.
- NOTE CONCERNANT LES ÉCHANTILLONS NE MIGRANT PAS :**
L'échantillon dilué ne parvient pas toujours à migrer correctement. Dans ce cas, la Fenêtre de réaction n'est que partiellement humidifiée. Si la Fenêtre de réaction ne semble pas complètement humidifiée dans les 5 minutes suivant l'ajout de l'échantillon dans le Micropuits d'échantillon, verser 100 µl (4 gouttes) de Diluant dans le Micropuits d'échantillon puis attendre 5 minutes de plus (soit 20 minutes au total). Passer à l'étape suivante de la Procédure de test.
- Après incubation, ajouter 300 µl de Tampon de lavage à l'aide du compte-gouttes blanc gradué dans la Fenêtre de réaction centrale. Veiller à ce que le Tampon de lavage soit complètement absorbé.
 - Verser 2 gouttes de Substrat (bouteille à capsule blanche) dans la Fenêtre de réaction centrale.
 - Laisser incubé 10 minutes à température ambiante. Lire les résultats et les consigner après l'incubation.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS



Résultat positif



Résultat négatif



Résultat invalide



Résultat invalide

REMARQUE : les contrôles externes ont été prévus pour contrôler uniquement les erreurs aberrantes systématiques. Si les résultats attendus ne sont pas observés avec les contrôles positif et négatif, cela indique que les contrôles eux-mêmes ne fonctionnent pas correctement.

- L'interprétation du test est plus fiable lorsque le dispositif est lu juste à la fin de la réaction, dans un espace bien éclairé, et directement au-dessus du dispositif, à une distance de travail normale.
- Résultat positif :** Deux bandes verticales bleues sont visibles, la bande de contrôle du côté « C » (à gauche) de la Fenêtre de réaction et la bande de test du côté « T » (à droite) de la Fenêtre de réaction. Les bandes peuvent présenter une couleur claire à foncée et toute bande apparaissant du côté « T » est considérée comme positive. La décoloration de la membrane ne peut pas être interprétée comme un résultat positif. Un résultat positif indique la présence de l'antigène de l'*E. histolytica* et la présence d'une bande de contrôle positive correctement réactive.
- Résultat négatif :** Une seule bande verticale bleue est visible du côté « C » (à gauche) de la Fenêtre de réaction et aucune bande de test n'est visible du côté « T » de la Fenêtre de réaction. Un résultat négatif indique que l'antigène de l'*E. histolytica* est soit absent de l'échantillon soit inférieur à la limite de détection du test et que la bande de contrôle positive est correctement réactive.
- Résultat invalide :** Une seule bande est visible du côté « T » de la Fenêtre de réaction ou aucune bande n'est visible dans la Fenêtre de réaction. Le test est invalide si aucune bande de contrôle n'est visible à l'issue de la réaction du test.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

La validité des résultats obtenus avec le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* dépend de la bonne réaction des contrôles interne et externe.

Interne : Une bande de contrôle verticale bleue doit être visible du côté « C » de la Fenêtre de réaction sur chaque Dispositif à membrane testé. Cela confirme que l'échantillon et les réactifs ont été ajoutés correctement et qu'ils ont réagi correctement à l'essai. Un fond clair dans la zone des résultats est considéré comme un contrôle interne négatif. Il peut apparaître blanc à bleu clair et toutes les bandes qui se développent seront clairement visibles.

Externe : La réactivité du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* doit être contrôlée dès la réception avec le Contrôle positif et le contrôle négatif (Diluant). Le Contrôle positif permet de confirmer la réactivité des autres réactifs associés à l'essai mais il ne permet pas de garantir la précision à la limite de détection de l'essai analytique. Des tests supplémentaires peuvent être réalisés à l'aide des contrôles pour répondre aux exigences des réglementations locales, nationales et/ou fédérales et/ou des organismes d'accréditation.

LIMITES

- Un résultat de test négatif n'exclut pas la possibilité que l'adhésine d'*E. histolytica* soit présente dans l'échantillon, ce qui peut se produire si le niveau d'antigène est inférieur à la limite de détection du test.
- Le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* est un test qualitatif. L'intensité de la couleur ne doit pas être interprétée en termes quantitatifs.

VALEURS ATTENDUES

Les individus en bonne santé ne sont normalement pas infectés par l'*E. histolytica* et doivent présenter un résultat négatif au test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Un résultat positif au test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* indique que l'individu sécrète une quantité détectable d'antigène d'*E. histolytica*. L'incidence des infections dues à l'*E. histolytica* varie de façon significative en fonction des populations et des zones géographiques. On estime que l'*Entamoeba histolytica* infecte environ 50 millions de personnes dans le monde entier (2). Environ 90 % de ces personnes restent asymptomatiques alors que 10 % présentent des symptômes cliniques allant de maladies gastro-intestinales à des abcès du foie. Les groupes à haut risque incluent des personnes qui ont travaillé à l'étranger, des immigrants, des personnes immunodéficientes, des travailleurs migrants et des homosexuels masculins actifs (2, 3). Les souches non pathogènes (*E. dispar*) sont prédominantes chez les homosexuels masculins (4). La maladie est souvent transmise par des porteurs asymptomatiques de l'*E. histolytica*.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

L'efficacité du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* a été comparée à celles du test *E. HISTOLYTICA II* et du test Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* avec des échantillons contradictoires résolus par PCR. Les échantillons de selles incluaient 449 échantillons congelés. Des informations relatives à l'âge étaient disponibles pour 350 patients. Sur les 350, 87 % était âgés de moins de 18 ans. Des informations relatives au sexe étaient disponibles pour 424 patients : 46 % étaient des hommes et 54 % des femmes. Le tableau 1 présente un résumé de l'efficacité clinique du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* sur les 3 sites.

Tableau 1. Résumé de l'efficacité clinique après comparaison du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* avec le test *E. HISTOLYTICA II*, et avec le test Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica*.

n = 449	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Positif	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Négatif
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Positif	94	3
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Négatif	3	349
Intervalle de confiance de 95 %		
Pourcentage de concordance positive	96,9 %	90,6 % - 99,2 %
Pourcentage de concordance négative	99,1 %	97,3 % - 99,8 %
Pourcentage de concordance globale	98,7 %	98,5 % - 98,9 %
*Résolu par PCR – Pourcentage de concordance globale	99,6 %	99,6 % - 99,6 %

n = 449	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Positif	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Négatif
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Positif	87	10
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Négatif	24	328
Intervalle de confiance de 95 %		
Pourcentage de concordance positive	78,4 %	69,4 % - 85,4 %
Pourcentage de concordance négative	97,0 %	94,5 % - 98,5 %
Pourcentage de concordance globale	92,4 %	91,0 % - 93,6 %
*Résolu par PCR – Pourcentage de concordance globale	99,3 %	99,2 % - 99,4 %

*Les 40 échantillons contradictoires ont été résolus par purification d'ADN à partir des échantillons de selles et de l'amplification en chaîne par polymérase (PCR) de l'*E. histolytica*, l'*E. dispar* et l'*E. moshkovskii*.

Pour les 6 échantillons contradictoires entre l'*E. HISTOLYTICA II* et l'*E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* : Les 3 échantillons positifs à l'*E. HISTOLYTICA II* et négatifs à l'*E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* incluaient 2 positifs pour le gène GDH de l'*E. histolytica* et 1 négatif pour le gène GDH de l'*E. Histolytica*. Les 3 échantillons négatifs à l'*E. HISTOLYTICA II* et positifs à l'*E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* étaient positifs pour le gène GDH de l'*E. histolytica*.

Pour les 34 échantillons contradictoires entre le test Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* et l'*E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* : Les 24 échantillons positifs au Remel™ ProSpec™ et négatifs à l'*E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* incluaient 3 positifs pour le gène GDH de l'*E. histolytica*, 13 positifs pour le gène GDH à l'*E. dispar* et 8 négatifs pour le gène GDH à l'*Entamoeba*. Les 10 échantillons négatifs au Remel™ ProSpec™ et positifs à l'*E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* étaient positifs pour le gène GDH à l'*E. histolytica*.

REPRODUCTIBILITÉ

La reproductibilité du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* a été déterminée en utilisant 12 échantillons de selles codés pour empêcher leur identification pendant le test. Le test a été réalisé dans 2 laboratoires indépendants et sur site chez TECHLAB®, Inc. Les échantillons ont été testés deux fois par jour pendant 5 jours par plusieurs techniciens travaillant sur chaque site avec 2 lots de kits différents. Un contrôle positif et un contrôle négatif ont été effectués avec chaque panel d'échantillons masqués. Les résultats de chaque laboratoire ont été transmis à TECHLAB®, Inc. et comparés aux résultats internes. Ils étaient cohérents entre les différents sites et affichaient une corrélation de 100 %. Les échantillons ont donné les résultats prévus sur toute la durée des essais.

RÉACTIVITÉ CROISÉE

La réactivité croisée du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* a été évaluée avec les souches bactériennes et virales énumérées ci-après. Aucune de ces souches n'a provoqué d'interférence avec le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*.

Aeromonas hydrophila
Bacillus cereus
Bacillus subtilis
Bacteroides fragilis
Campylobacter coli
Campylobacter fetus
Campylobacter jejuni
Candida albicans
Clostridium bifermentans

Clostridium difficile
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Escherichia coli 0157:H7
Escherichia coli ETEC
Escherichia coli EPEC
Escherichia coli EIEC
Klebsiella pneumonia
Salmonella typhimurium

Shigella dysenteriae
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Staphylococcus aureus (Cowan)
Staphylococcus epidermidis
Vibrio parahaemolyticus
Yersinia enterocolitica

Adénovirus, 2, 5, 40, 41
Coxsackievirus B5
Échovirus 11, 18, 22, 33
Entérovirus 68, 69

Adénovirus humaine 1, 3
Coronavirus humain
Coxsackievirus humain B2, B3, B4
Échovirus humain 9

Entérovirus humain 69, 70, 71
Paréchovirus humain 1
[Échovirus 22]
Rotavirus humain

Par ailleurs, le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* a été réalisé sur des échantillons de selles documentés positifs pour les autres parasites par microscope. Aucune réactivité croisée avec les organismes suivants n'a été observée.

Entamoeba coli
Entamoeba dispar
Entamoeba moshkovskii
Œufs d'*Ascaris lumbricoides*
Blastocystis hominis

Chilomastix mesnili
Cyclospora spp.
Endolimax nana
Giardia spp.
Hymenolepis nana

Œufs d'*ankylostome*
Iodamoeba bütschlii
Trichomonas hominis
Œufs de *Trichuris trichiura*

SUBSTANCES INTERFÉRENTES (formules américaines)

Les substances suivantes n'ont pas modifié le résultat positif ou négatif des tests aux concentrations indiquées ci-après : Mucine gastrique de porc (3,5 % p/v), sang humain (40 % v/v), sulfate de baryum (5 % v/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), Maalox® Advanced (5 % v/v), Acide stérique (40 % p/v), Acide palmitique (40 % p/v), Métronidazole (0,25 % p/v), Phényléphrine (40 % p/v), Sodium de naproxène (40 % p/v), Nonoxynol-9 (40 % v/v), Vancomycine (0,25 % p/v), Priolsec OTC® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), Tagamet® (5 µg/ml), Ciprofloxacine (0,25 % p/v), Mylanta® (4,2 mg/ml) et Urine humaine (5 % v/v).

PRÉCISION – INTRA-ANALYSE

Pour la détermination de l'efficacité intra-analyse, 12 échantillons de selles humaines ont été analysés avec le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Sur ces 12 échantillons, six étaient positifs à l'*E. histolytica* à différents niveaux (faible, modéré et élevé) et six étaient négatifs à l'*E. histolytica*. Chaque échantillon a été testé cinq fois dans le même cycle de tests, avec deux lots différents du kit. Un contrôle positif et un contrôle négatif ont été testés avec chaque panel. Tous les échantillons positifs le sont restés, de même que tous les échantillons négatifs sont restés négatifs.

PRÉCISION – INTER-ANALYSE

Pour la détermination de l'efficacité inter-analyse, 12 échantillons de selles humaines ont été analysés avec le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Sur ces 12 échantillons, six étaient positifs à l'*E. histolytica* à différents niveaux (faible, modéré et élevé) et six étaient négatifs à l'*E. histolytica*. Les échantillons ont été testés deux fois par jour pendant 12 jours par plusieurs techniciens à l'aide de 2 lots de kit différents. Un contrôle positif et un contrôle négatif ont été testés chaque jour. Tous les échantillons positifs le sont restés, de même que tous les échantillons négatifs sont restés négatifs.

SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

La limite de détection (LD) du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* a été établie à une concentration de 0,2 ng/ml pour l'adhésine d'*E. histolytica*.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

ÚČEL POUŽITÍ

Test TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ je rychlá membránová enzymová imunoanalýza pro kvantitativní stanovení adhezinu *Entamoeba histolytica* v kazeře na jedno použití. Je určen k použití se vzorky lidské stolice od pacientů trpících průjemem nebo dysentérií jakožto pomůcka v diagnostikování infekce trávicího traktu, zejména z původcem je *E. histolytica*. Výsledky testu by se měly brát v úvahu ve spojení s anamnézou pacienta.

VYSVĚTLENÍ

Entamoeba histolytica a *Entamoeba dispar* jsou střevní paraziti, kteří každoročně postihují přibližně půl miliardy lidí na celém světě (1). Je třeba rozlišovat mezi dvěma kmeny, protože *E. histolytica* je patogenní a způsobuje střevní amébiázu (např. průjem, dysentérii, kolitidu) a mimostřevní amébiázu (např. jaterní absces). *E. dispar* není spojována se symptomatickým onemocněním a nepřesná diagnóza může vést ke zbytečné léčbě. Nejběžnější metodou použitou k diagnostikování amébiázy je mikroskopie s nativním vzorkem, která má nízkou citlivost a specifitu. Trofozoity a cysty se v jednom vzorku stolice neurčí snadno a při pozorování je obtížné vizuálně rozlišit *E. dispar* a *E. histolytica*. Stanovení *Entamoeba* spp. pomocí imunoanalýzy poskytuje alternativní diagnostickou metodu s větší citlivostí (2). Imunoanalýza s větší citlivostí pro *E. histolytica*, např. test E. HISTOLYTICA QUIK CHEK, poskytuje dodatečnou výhodu tím, že stanovují pouze infekce způsobené kmenem *E. histolytica*. Mnoho vzorků lze testovat rychle a objektivně a procedura je méně náročná na práci než většina jiných diagnostických metod.

PRINCIP TESTU

Test E. HISTOLYTICA QUIK CHEK využívá protilátky specifické pro kmen *E. histolytica*. Membránový prostředek obsahuje Reakční šterbinu se dvěma svislými čárkami imobilizovaných protilátek. Testová čárka („C“) obsahuje monoklonální protilátky specifické pro adhezin *E. histolytica*. Kontrolní čárka („C“) obsahuje protilátky křénové peroxidázy (HRP). Konjugát se skládá z protilátek *E. histolytica* navázaných na křénovou peroxidázu. K provedení testu se konjugát přidá do zkumavky obsahující směs Ředícího roztoku a Konjugátu. Směs zředěného vzorku a konjugátu se přidá do Vzorovací jamky a prostředek se nechá inkubovat 15 minut při pokojové teplotě. Během inkubace se veškerý adhezin *E. histolytica* ve vzorku naváže na konjugát peroxidázy protilátek. Komplexy antigen-protilátka-peroxidáza migrují přes filtrační vložku do membrány, kde se zachytí imobilizovanými anti-adhesinovými protilátkami v čáře. Reakční šterbina je následně propláchnuta Promývacím pufrům a poté se přidá Substrát. Po 10 minutách inkubační doby se Reakční šterbina vizuálně zkontroluje, zda jsou přítomny svislé modré čárky na straně „C“ a „T“ Reakční šterbiny. Modrá čárka na straně „T“ Reakční šterbiny ukazuje pozitivní výsledek. Pozitivní reakce „C“, kterou ukazuje svislá modrá čárka na straně „C“ Reakční šterbiny, monitoruje/potvrzuje, že vzorek a reagencie byly přidány správně, reagencie byly v době provádění analýzy aktivní a vzorek správně migroval přes Membránový prostředek. Rovněž potvrzuje reaktivitu dalších reagentů spojených s analýzou.

CS

DODÁVANÉ MATERIÁLY

MEM DEV

Membránové prostředky – Každý váček obsahuje 1 prostředek

CONJ ENZ

Konjugát (2 ml) – Protilátka specifická pro *E. histolytica* navázaná na křénovou peroxidázu v pufrovém proteinovém roztoku

DIL SPE

Ředící roztok (16 ml) – Pufrový proteinový roztok s černým systémem kapátka se stupnicí

CONTROL +

Pozitivní kontrola (1 ml) – Antigen *E. histolytica* v pufrovém proteinovém roztoku

SUBS REAG

Substrát (3,5 ml) – Roztok obsahující tetrametylbendizin

WASH REAG

Promývací pufr (12 ml) – Pufrový roztok s bílým systémem kapátka se stupnicí

Plastové pipety na jedno použití (50) – Kalibrované po 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl a 500 µl

IVD

In Vitro Diagnostické lékařské zařízení

POŽADOVANÝ MATERIÁL A VYBAVENÍ, KTERÉ NENÍ DODÁVÁNO

Malé testovací zkumavky (např. plastové mikrocentrifugační zkumavky) Dřevěné aplikační tyčinky
Jednorázové rukavice Pipetovací automat a špičky Časovač

ŽIVOTNOST A SKLADOVÁNÍ

Datum expirace soupravy je uvedeno na štítku krabice soupravy. Skladujte soupravu při teplotě 2 °C až 8 °C. Vraťte soupravu do lednice co nejdříve po použití.

BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Po přijetí zkontrolujte soupravu, abyste ověřili, že jednotlivé součásti nejsou zmrzlé nebo teplé na dotek v důsledku nevhodných přepravních podmínek a že nejsou zjevně žádné známky průsaku.
2. Před použitím přiveďte všechny součásti k pokojové teplotě, abyste zajistili řádnou reaktivitu soupravy.
3. Reagencie Substrátu by měla být bezbarvá. Pokud se reagencie Substrátu změní na tmavě modrou / fialovou barvu, zlikvidujte ji a zavolejte na technické služby a požádejte o výměnu.
4. Reagencie z různých souprav se nesmějí směšovat nebo zaměňovat. Nepoužívejte soupravu po datu expirace.
5. Sestavy víček, špiček a kapátek jsou barevně označeny; NEMÍCHEJTE je ani je nezaměňujte!
6. Vzorky stolice použijte do 72 hodin od odběru, abyste získali optimální výsledky. Vzorky, které jsou zmrazené, mohou ztratit reaktivitu v důsledku zmrazení a rozmrazení.
7. Test byl optimalizován na citlivost a specifitu. Změny ve specifikovaném postupu a/nebo podmínkách testu mohou ovlivnit citlivost a specifitu testu. Uvedený postup neměňte.
8. Vzorky stolice a použité membránové prostředky mohou obsahovat potenciálně infekční složky a je s nimi třeba zacházet v souladu s úrovní „Biologické bezpečnosti úrovně 2“, která se doporučuje v manuálu CDC/NIH (Centra pro kontrolu nemocí/Národního zdravotnického institutu) „Biologická bezpečnost v mikrobiologických a biomedicinských laboratořích“. Při provádění testu noste jednorázové rukavice.
9. Pro diagnostické použití *in vitro*.

ODEBÍRÁNÍ VZORKŮ STOLICE, MANIPULACE S NIMI A JEJICH SKLADOVÁNÍ

Přijatelné typy vzorků
Čerstvé vzorky stolice
Zmrazené vzorky stolice (zmrazené nerozpuštěné)

Nepoužívat
Vzorky stolice s fixační látkou na bázi formalínu (např. formalin octan sodný, 10 % formalin)
Vzorky stolice s fixační látkou na bázi alkoholu (např. polyvinylalkohol)
Vzorky stolice v přepravním médiu (např. Cary Blair)

- Použití standardních interních postupů pro odběr vzorků stolice a manipulaci s nimi. Odebírejte vzorky stolice do čistých nepropustných nádob.
- Ukládáte čerstvé vzorky stolice při teplotě od 2 °C do 8 °C až po dobu 72 hodin. Pokud nelze testování provést do 72 hodin od odběru, zmrazte je a uložte při teplotě ≤ -10 °C. Kdykoliv je to možné, testujte vzorky, které nejsou starší než 24 hodin.
- Opakované cykly zmrazování/tání by měly být vyloučeny. Pokud používáte zmrazené vzorky, rozmrazte je při pokojové teplotě.
- Neskladujte vzorky stolice v ředícím roztoku.

POSTUP PROVÁDĚNÍ TESTU

- Buďte pozorní k celkové době analýzy při testování více než jednoho vzorku stolice.
- Před použitím přiveďte všechny reagenty a prostředky k pokojové teplotě. Doporučuje se odstranit reagenty z pěnové vložky, aby se snížila doba potřebná k zahřátí na pokojovou teplotu
- Připravte a označte jednu malou testovací zkumavku pro každý vzorek a volitelnou externí kontrolu.**
- Do každé zkumavky přidejte 500 µl ředícího roztoku s použitím černého systému kapátka se stupnicí.**

Typ vzorku	Objem ředícího vzorku
Čerstvé vzorky stolice	500 µl
Zmrazené vzorky stolice (zmrazené nerozpuštěné)	500 µl

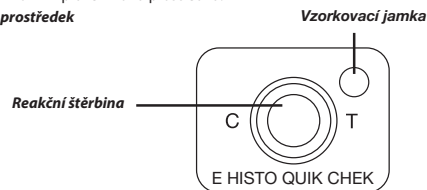
- Do každé zkumavky přidejte jednu kapku Konjugátu (lahvička s červeným víčkem).** Držte lahvičku kapátko svisle, abyste zajistili správnou velikost kapky. Ředící roztok a Konjugát by se měly přidávat do všech zkumavek před přidáním vzorků.
- Obstarejte si jednu plastovou transferovou pipetu na jedno použití (dodává se spolu se soupravou) na každý vzorek.

Transferová pipeta se stupnicí:



- Pro tekuté/Poloteuté vzorky** - Důkladně vzorky promíchejte. Pomocí transferové pipety přidejte 25 µl vzorku do směsi ředícího roztoku/Konjugátu ve zkumavce.
Pro formované/pevné vzorky - Zamíchejte důkladně vzorek dřevěnou aplikační tyčinkou a přeneste malou část (přibližně 2 mm v průměru, ekvivalent 25 µl) vzorku do směsi ředícího roztoku/konjugátu. Vzorek převedte na emulzi aplikační tyčinkou.
POZNÁMKA: Přenesení příliš malého množství vzorku nebo nedostatečné smísení či suspendování vzorku ve směsi ředícího roztoku/Konjugátu může vést k falešně negativním výsledkům testu. Přidání přílišného množství vzorku stolice může způsobit neplatné výsledky z důvodu omezeného toku vzorku.
- Volitelné externí kontroly:**
Externí pozitivní kontrola - přidejte jednu kapku Pozitivní kontroly (lahvička s šedým víčkem) do příslušné testovací zkumavky.
Externí negativní kontrola - přidejte 25 µl ředícího roztoku do příslušné testovací zkumavky.
- U všech testových a kontrolních vzorků uzavřete zkumavky a důkladně je promíchejte pomocí mixéru vortex nebo tak, že zkumavku několikrát otočíte. Vzorky nebo kontroly rozpuštěné ve směsi ředícího roztoku/konjugátu lze inkubovat při pokojové teplotě až 2 hodiny před přidáním do Membránového prostředku.
- Otevřete jeden váček Membránového prostředku pokojové teploty na každý rozpuštěný vzorek a externí kontrolu (podle potřeby). Vhodně označte každý prostředek a orientujte jej na rovném povrchu tak, aby text „E HISTO QUIK CHEK“ byl na spodní straně prostředku a malá vzorkovací jamka byla umístěna v horním pravém rohu prostředku.

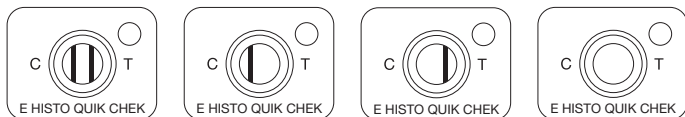
Membránový prostředek



- Než přidáte Membránový prostředek, ujistěte se, že je každý rozpuštěný vzorek důkladně promíchán (viz krok 9). **Pomocí nové transferové pipety přeneste 500 µl (horní část) z každé zkumavky do vzorkovací jamky (menší díra v pravém horním rohu prostředku) Membránového prostředku.** Při přidávání vzorku do vzorkovací jamky se ujistěte, že je špička transferové pipety uvnitř vzorkovací jamky a směřuje k Reakční štěrbíně. Rozpuštěný vzorek vytlačte na vsakovací vložku uvnitř Membránového prostředku.

12. **Inkubujte prostředek při pokojové teplotě po dobu 15 minut** – vzorek projde přes prostředek a vlhká oblast se rozšíří přes *Reakční štěrbinu*. Krok 15minutové inkubace začíná po přenesení poslední směsi zředěného vzorku a konjugátu do posledního *Membránového prostředku*.
POZNÁMKA PRO VZORKY, KTERÉ NEMIGRUJÍ:
Někdy nemusí dojít ke správné migraci zředěného vzorku a *Reakční štěrbina* není plně vlhká. Pokud nedojde během 5 minut k úplnému navlhčení *reakční štěrbiny* od přidání vzorku do *Vzorkovací jamky*, přidejte 100 µl (4 kapky) ředícího roztoku do *Vzorkovací jamky* a počkejte dalších 5 minut (celkem 20 minut). Pokračujte dalším krokem postupu Testování.
13. **Po inkubaci přidejte 300 µl Promývacího pufru do ústřední *Reakční štěrbiny* s použitím bílého systému kapátka se stupnicí.** Nechejte *Promývací pufr* zcela absorbovat.
14. **Přidejte 2 kapky *Substrátu* (lahvička s bílým víčkem) do ústřední *Reakční štěrbiny*.**
15. Inkubujte 10 minut při pokojové teplotě. Odečtete a zaznamenejte výsledky vizuálně po inkubaci.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ



Pozitivní výsledek

Negativní výsledek

Neplatný výsledek

Neplatný výsledek

POZNÁMKA: Externí kontroly jsou určeny pouze k monitorování hrubých systematických chyb. Pokud nejsou očekávané výsledky pozorovány s pozitivními a negativními kontrolami, mohlo by to znamenat, že kontroly samotné nefungují správně.

1. Interpretace testu je nejspolehlivější, když se výsledek odečte okamžitě na konci reakce, na dobře osvětleném místě a přímo nad prostředkem v běžné pracovní vzdálenosti.
2. **Pozitivní výsledek:** Dvě vertikální modré čáry jsou viditelné, kontrolní čárka na „C“ (levé) straně *Reakční štěrbiny* a testová čárka na „T“ (pravé) straně *Reakční štěrbiny*. Čáry se mohou jevit jako nejasné až tmavé co do intenzity - jakákoliv čárka na straně „T“ se považuje za pozitivní. Ztrátu barvy membrány nelze interpretovat jako pozitivní výsledek. Pozitivní výsledek ukazuje na přítomnost antigenu *E. histolytica* a je přítomna čárka řádně reaktivní pozitivní kontroly.
3. **Negativní výsledek:** Jedna vertikální modrá čárka je viditelná na straně „C“ (levé) straně *Reakční štěrbiny* a na straně „T“ *Reakční štěrbiny* není viditelná žádná testová čárka. Negativní výsledek ukazuje, že antigen *E. histolytica* buďto ve vzorku chybí, nebo je pod detekčním limitem testu, a že je přítomna čárka řádně reaktivní pozitivní kontroly.
4. **Neplatný výsledek:** Jedna čárka je viditelná na „T“ straně *Reakční štěrbiny* nebo nejsou v *Reakční štěrbine* vidět žádné čáry. Test je neplatný, pokud není při ukončení testovací reakce přítomna kontrolní čárka.

KONTROLA KVALITY

Platnost výsledků testu s použitím testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* závisí na řádné reakci interních a externích kontrol.

Interní: V části „C“ *Reakční štěrbiny* musí být viditelná svislá modrá čárka na každém *Membránovém prostředku*, který se testuje. To potvrzuje, že vzorek a reagentie byly přidány správně a v analýze reagovaly, jak měly. Jasně pozadí v oblasti výsledku je považováno za interní negativní kontrolu. Může se jevit jako bílé až světle modré a jakékoliv čáry, které se vytvoří, jsou jasně viditelné.

Externí: Reaktivitu testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* je třeba ověřit po přijetí pomoci *Pozitivní kontroly* a negativní kontroly (*ředící roztok*). *Pozitivní kontrola* potvrzuje reaktivitu dalších reagentií spojených s analýzou a není určena pro zajištění přesnosti analytické meze stanovení. Další testy se mohou provádět s kontrolami ke splnění požadavků místních nebo národních předpisů a/nebo požadavků akreditačních organizací.

OMEZENÍ

1. Negativní výsledek testu nevylučuje možnost přítomnosti adhezínu *E. histolytica* ve vzorku, který se může vyskytnout, pokud je hodnota antigenu nižší než detekční limit testu.
2. Test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* je kvalitativní. Intenzitu barvy nelze posuzovat kvantitativně.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Běžní zdraví jedinci by neměli být infikováni bakterií *E. histolytica* a test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* by měl u nich vyjít negativní. Pozitivní výsledek testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* ukazuje, že osoba produkuje pozorovatelné množství antigenu *E. histolytica*. Incidence infekce *E. histolytica* se výrazně liší mezi populacemi a zeměpisnými oblastmi. Odhaduje se, že *Entamoeba histolytica* infikuje asi 50 milionů lidí na celém světě (2). Přibližně 90 % těchto osob nemá žádné příznaky, zatímco asi u 10 % se vyskytnou klinické příznaky od onemocnění trávicího traktu po jaterní abscesy. Vysoce rizikové skupiny zahrnují osoby, které cestovaly do zahraničí, imigranty, osoby s oslabeným imunitním systémem, osoby migrující za prací a aktivní muže homosexuální (2, 3). Nepatogenní kmeny (*E. dispar*) převládají u mužů homosexuálních (4). Onemocnění se obvykle přenáší asymptomatickými nositeli *E. histolytica*.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Funkčnost testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* byla srovnávána s testem *E. HISTOLYTICA II* a testem Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* s různými vzorky analyzovanými pomocí PCR. Vzorky stolice zahrnovaly 449 zmrazených vzorků. Informace o věku byly k dispozici u 350 pacientů. Z 350 pacientů bylo 87 % < 18 let. Informace o pohlaví byly k dispozici u 424 pacientů, z nichž 46 % byli muži a 54 % byly ženy. Tabulka 1 ukazuje přehled klinické funkčnosti testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* na všech 3 místech.

Tabulka 1. Souhrn klinické funkčnosti srovnávající test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* s testem *E. HISTOLYTICA II* a testem Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica*.

<i>n</i> = 449	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Pozitivní	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Negativní
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Pozitivní	94	3
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Negativní	3	349

	Interval spolehlivosti 95 %	
Procento pozitivní shody	96,9 %	90,6 % - 99,2 %
Procento negativní shody	99,1 %	97,3 % - 99,8 %
Celkové procento shody	98,7 %	98,5 % - 98,9 %
*Analýzováno pomocí PCR – Celkové procento shody	99,6 %	99,6 % - 99,6 %

<i>n</i> = 449	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Pozitivní	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Negativní
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Pozitivní	87	10
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Negativní	24	328

	Interval spolehlivosti 95 %	
Procento pozitivní shody	78,4 %	69,4 % - 85,4 %
Procento negativní shody	97,0 %	94,5 % - 98,5 %
Celkové procento shody	92,4 %	91,0 % - 93,6 %
*Analýzováno pomocí PCR – Celkové procento shody	99,3 %	99,2 % - 99,4 %

*40 různých vzorků bylo analyzováno purifikací DNA ze vzorků stolice a zesílením reakce řetězce polymerázy (PCR) pro *E. histolytica*, *E. dispar* a *E. moshkovskii*.

U 6 různých vzorků mezi testem *E. HISTOLYTICA II* a testem *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: 3 vzorky pozitivní v testu *E. HISTOLYTICA II* a negativní v testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* byly *E. histolytica* PCR-pozitivní. 3 vzorky negativní v testu *E. HISTOLYTICA II* a pozitivní v testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* zahrnovaly 2 *E. histolytica* PCR-pozitivní a 1 *E. histolytica* PCR-negativní.

U 34 různých vzorků mezi testem Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* a testem *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: 24 vzorků pozitivních v testu Remel™ ProSpec™ a negativních v testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* zahrnovalo 3 *E. histolytica* PCR-pozitivní výsledky, 13 *E. dispar* PCR-pozitivních a 8 *Entamoeba* PCR-negativních výsledků. 10 vzorků negativních v testu *E. HISTOLYTICA II* a pozitivních v testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* bylo *E. histolytica* PCR-pozitivních.

REPRODUKOVATELNOST

Reprodukovatelnost *E. testu HISTOLYTICA QUIK CHEK* byla stanovena pomocí 12 vzorků stolice, které byly kódovány, aby se během testování předešlo jejich identifikaci. Testování bylo provedeno ve 2 nezávislých laboratořích a přímo ve společnosti TECHLAB®, Inc. Vzorky byly testovány dvakrát denně během 5 dnů a toto testování provádělo několik techniků na každém pracovišti s použitím 2 různých šarží souprav. Pozitivní a negativní kontrola byla provedena s každým panelem maskovaných vzorků. Výsledky z každé laboratoře byly předloženy společnosti TECHLAB®, Inc. a srovnány s výsledky testů provedených ve společnosti TECHLAB. Výsledky byly v rámci různých lokalit konzistentní a prokazovaly korelaci 100 %. Vzorky dosáhly očekávaných výsledků ve 100 %.

KŘÍŽOVÁ REAKTIVITA

Test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* byl vyhodnocen v oblasti křížové reaktivity s kmeny bakterií a virů uvedenými níže. U žádných kmenů se neprokázala interference s funkčností testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan)
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	

Adenovirus 2, 5, 40, 41	Lidský adenovirus 1, 3	Lidský enterovirus 69, 70, 71
Coxsackievirus B5	Lidský coronavirus	Lidský parechovirus 1
Echovirus 11, 18, 22, 33	Lidský coxsackievirus B2, B3, B4	[Echovirus 22]
Enterovirus 68, 69	Lidský echovirus 9	Lidský rotavirus

Kromě toho byl test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* proveden na vzorcích stolice, u kterých byla mikroskopicky ověřena pozitivita pro jiné parazity. Žádná křížová reaktivita nebyla pozorována u následujících organismů.

<i>Entamoeba coli</i>	<i>Chilomastix mesnili</i>	<i>Měchovec vajíčka</i>
<i>Entamoeba dispar</i>	<i>Cyclospora</i> spp.	<i>Iodamoeba bütschlii</i>
<i>Entamoeba moshkovskii</i>	<i>Endolimax nana</i>	<i>Trichomonas hominis</i>
<i>Ascaris lumbricoides</i> vajíčka	<i>Giardia</i> spp.	<i>Trichuris trichiura</i> vajíčka
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Hymenolepis nana</i>	

INTERFERUJÍCÍ LÁTKY (FORMULACE USA)

Následující látky nemají žádný vliv na pozitivní nebo negativní výsledky testu, když byly analyzovány v uvedených koncentracích: Prasečí žaludeční mucin (3,5 % obj. hmot.), lidská krev (40 % obj. hmot.), hydrokortizon (vol. 40 %), síran barnatý (5 % obj. hmot.), Imodium® (vol. 5 %), kaopektát® (vol. 5 %), Pepto-Bismol® (vol. 5 %), Maalox® Advanced (vol. 5 %), kyselina stearová (40 % obj. hmot.), kyselina palmitová (40 % obj. hmot.), Metronidazol (0,25 % obj. hmot.), Fenylefrin (40 % obj. hmot.), Naproxen sodný (40 % obj. hmot.), Nonoxynol-9 (vol. 40 %), Vancomycin (0,25 % obj. hmot.), Priolsec OTC® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), Tagamet® (5 µg/ml), Ciprofloxacin (0,25 % obj. hmot.), Mylanta® (4,2 mg/ml) a lidská moč (vol. 5 %).

PŘESNOST - INTRAANALÝZA

Ke stanovení funkčnosti intra-analýzy bylo analyzováno dvanáct vzorků lidské stolice pomocí testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Z těchto dvanácti vzorků bylo šest pozitivních pro *E. histolytica* různých úrovní (nízká, střední a vysoká) a šest bylo negativních pro *E. histolytica*. Každý vzorek byl analyzován pětikrát ve stejném testovacím běhu, a to s použitím dvou souprav různých šarží. Pozitivní a negativní kontrola byla provedena s každým panelem. Všechny pozitivní vzorky byly nadále pozitivní a všechny negativní vzorky byly nadále negativní.

PŘESNOST - INTER-ANALÝZA

Ke stanovení funkčnosti inter-analýzy bylo analyzováno dvanáct vzorků lidské stolice pomocí testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Z těchto dvanácti vzorků bylo šest pozitivních pro *E. histolytica* různých úrovní (nízká, střední a vysoká) a šest bylo negativních pro *E. histolytica*. Vzorky testovalo dvakrát denně více techniků po dobu více než 12 dnů s použitím 2 souprav různých šarží. Každý den byla provedena pozitivní a negativní kontrola. Všechny pozitivní vzorky byly nadále pozitivní a všechny negativní vzorky byly nadále negativní.

ANALYTICKÁ CITLIVOST

Limit detekce (LD) pro test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* byl stanoven v koncentraci 0,2 ng/ml pro adhezín *E. histolytica*.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

TILSIGTET ANVENDELSE

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ testen er en hurtig membranenzym-immunassay til kvalitativ påvisning af adhesin fra *Entamoeba histolytica* i en engangskassette. Den er beregnet til brug sammen med humane fæcesprøver fra patienter med diare eller dysenteri som en hjælp ved diagnosticering af gastrointestinal infektion med *E. histolytica*. Testresultaterne skal ses i sammenhæng med patientens sygehistorie.

FORKLARING

Entamoeba histolytica og *Entamoeba dispar* er intestinale parasitter, som inficerer omkring en halv milliard mennesker på verdensplan hvert år (1). Det er nødvendigt at skelne mellem de to arter, fordi *E. histolytica* er patogen og forårsager intestinal amebiasis (f.eks. diare, dysenteri, kolitis) og ekstraintestinal amebiasis (f.eks. leverabsces). *E. dispar* associeres ikke med symptomgivende sygdom, og upræcis diagnosticering kan resultere i unødvendig behandling. Den hyppigst anvendte metode til diagnosticering af amebiasis, har været wet mount-mikroskopi, som har ringe følsomhed og specifitet. Trofozoitter og cyster er svære at identificere i en enkelt fæcesprøve, og det er vanskeligt visuelt at skelne mellem *E. dispar* og *E. histolytica*, når de findes. Påvisning af *Entamoeba* spp. ved hjælp af immunassay giver en alternativ diagnosticeringsmetode med større følsomhed (2). Specifikke immunassays for *E. histolytica*, så som E. HISTOLYTICA QUIK CHEK testen, giver den ekstra fordel kun at identificere *E. histolytica*-infektioner. Der kan testes et stort antal prøver hurtigt og objektivt, og proceduren er mindre arbejdsintensiv end de fleste andre diagnosticeringsmetoder.

PRINCIP FOR TESTEN

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK testen anvender antistoffer, der er specifikke for *E. histolytica*. Membranenheden indeholder et Reaktionsvindue med to lodrette linjer af immobiliserede antistoffer. Testlinjen ("T") indeholder monoklonale antistoffer, der er specifikke for *E. histolytica*-adhesin. Kontrolinjen ("C") indeholder antistoffer over for peberrodsperoxidase (HRP). Konjugatet består af antistoffer over for *E. histolytica* koblet til peberrodsperoxidase. For at foretage testen tilsættes prøven til et glas indeholdende en blanding af Diluent og Konjugat. Den fortyndede blanding af prøve og konjugat tilsættes *Prøvebrønden*, og enheden får lov til at inkubere ved rumtemperatur i 15 minutter. Under inkuberingen binder eventuel *E. histolytica*-adhesin i prøven sig til antistof-peroxidase-konjugatet. Antigen-antistof-peroxidase-komplekserne migrerer gennem en filterpude til en membran, hvor de opfanges af de immobiliserede anti-adhesin-antistoffer i linjen. *Reaktionsvinduet* vaskes efterfølgende med *Vaskebuffer*, og efterfølges af tilsætning af *substrat*. Efter en inkuberingsperiode på 10 minutter undersøges *Reaktionsvinduet* visuelt for fremkomst af lodrette blå linjer på "C"- og "T"-siden af *Reaktionsvinduet*. En blå linje på "T"-siden af *Reaktionsvinduet* indikerer et positivt resultat. En positiv "C"-reaktion indikeret ved en lodret blå linje på "C"-siden af *Reaktionsvinduet*, kontrollerer/bekræfter, at prøven og reagenserne er blevet tilsat korrekt, at reagenserne var aktive på det tidspunkt, hvor analysen blev udført, og at prøven migrerede rigtigt igennem *Membranenheden*. Den bekræfter desuden reaktiviteten af de andre reagenser, der er associeret med analysen.

LEVEREDE MATERIALER

MEM DEV

Membranenheder – hver pose indeholder 1 enhed

CONJ ENZ

Konjugat (2 ml) – Antistof specifikt for *E. histolytica* koblet til peberrodsperoxidase i en proteinopløsning tilsat buffer

DIL SPE

Diluent (16 ml) – proteinopløsning tilsat buffer med sort monteret målepipette

CONTROL +

Positiv kontrol (1 ml) – *E. histolytica* -antigen i en proteinopløsning tilsat buffer

SUBS REAG

Substrat (3,5 ml) – opløsning indeholdende tetramethylbenzidin

WASH REAG

Vaskebuffer (12 ml) – opløsning tilsat buffer med hvid monteret målepipette

Engangspipetter af plast (50) – skalaindelning ved 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl og 500 µl

IND

In vitro-diagnostisk udstyr

NØDVENDIGE MATERIALER OG UDSKYR SOM IKKE MEDFØLGER

Små prøveglas (f.eks. plastglas til mikrocenrifuge)

applikatorpinde af træ

Engangshandsker

Pipetter og spidser

Timer

HOLDBARHED OG OPBEVARING

Udløbsdatoen for kittet er trykt på etiketten på kit-æskén. Kittet skal opbevares ved mellem 2 °C og 8 °C. Sæt kittet tilbage i køleskabet så hurtigt som muligt efter brug.

SIKKERHEDSFORANSTALTNINGER

1. Ved ankomsten skal kittet efterses for at sikre, at komponenterne ikke er frosne eller varme ved berøring som følge af ukorrekte forsendelsesforhold, og at der ikke er tegn på lækage.
2. Lad alle komponenter få rumtemperatur før brug for at sikre korrekt kit-reaktivitet.
3. *Substrat*-reagenset skal være farveløst. Hvis *substrat*-reagenset ændrer sig til en mørkeblå/violet farve, skal det kasseres og teknisk service tilkaldes med henblik på udskiftning.
4. Reagenser fra forskellige kit må ikke blandes eller ombyttes. Et kit må ikke anvendes efter udløbsdatoen.
5. Hætter, spidser og pipetteenheder er farvemærkede og må IKKE blandes eller ombyttes!
6. Brug fæcesprøven inden for 72 timer efter indhentningen for at opnå optimale resultater. Prøver, der fryses, kan miste reaktivitet som følge af nedfrysning og optøning.
7. Testen er optimeret med hensyn til følsomhed og specifitet. Ændringer af den angivne procedure og/eller af testforhold kan påvirke testens følsomhed og specifitet. Afvig ikke fra den angivne procedure.

- Fæcesprøver og brugte membranenheder kan indeholde potentielt infektiøse stoffer og skal håndteres på "Biosikkerhedsniveau 2" som anbefalet i CDC/NIH-brugerhåndbogen "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories." Brug engangshandsker, når testen udføres.
- Til *in vitro*-diagnostisk brug.

INDHENTNING, HÅNTERING OG OPBEVARING AF FÆCESPRØVER

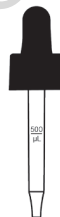
Acceptable prøvetyper	Brug ikke
Friske fæcesprøver	Fæcesprøver i formalinbaseret fixativ (f.eks. natriumacetatformalin, 10 % formalin)
Frosne fæcesprøver (frosne ufortyndede)	Fæcesprøver i alkoholbaseret fixativ (f.eks. polyvinylalkohol)
	Fæcesprøver i transportmedier (f.eks. Cary Blair)

- Brug interne standardprocedurer for indhentning og håndtering af fæcesprøver. Indhent fæcesprøver i rene, tætte beholdere.
- Opbevar friske fæcesprøver ved mellem 2 °C og 8 °C i op til 72 timer. Nedfrys prøver, og opbevar dem ved ≤ -10 °C, hvis testning ikke kan udføres inden for 72 timer efter indhentning. Test prøver, som er under 24 timer gamle, hvis det er muligt.
- Gentagne nedfrysnings-/opthøningscyklusser skal undgås. Hvis der anvendes frosne prøver, skal de optøes ved rumtemperatur.
- Fæcesprøver må ikke opbevares i *diluent*.

TESTPROCEDURE

- Vær opmærksom på den totale analyseetid, når der testes mere end en fæcesprøve.
- Lad alle reagenser og enheder få rumtemperatur før brug. Tag reagenserne ud af skumindsatsen for at reducere den tid, der er nødvendig for at opvarme dem til rumtemperatur.
- Klargør og mærk ét lille prøveglas for hver prøve og valgfrie eksterne kontroller.**
- Tilsæt 500 µl *diluent* til hvert glas ved hjælp af den sorte monterede målepipette.**

Prøvetype	Diluentvolumen
Friske fæcesprøver	500 µl
Frosne fæcesprøver (frosne ufortyndede)	500 µl



- Tilsæt én dråbe *konjugat* (flaske med rød hætte) til hvert glas.** Hold dråbeflasken lodret for at sikre korrekt dråbestørrelse. *Diluent* og *konjugat* skal tilsættes til alle glas, for prøverne tilsættes.

- Tag én engangstransferpipette af plast (leveret med kittet) til hver prøve.

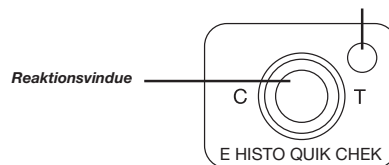
Skalainddelt transferpipette:



- For flydende/halvfaste prøver** - bland prøven grundigt. Ved hjælp af en transferpipette tilsættes 25 µl af prøven til *diluent/konjugat*-blandingen i glasset.
For formede/faste prøver - bland prøven grundigt ved hjælp af en applikatorpind af træ, og overfør en lille del (ca. 2 mm i diameter, svarende til 25 µl) af prøven til *diluent/konjugat*-blandingen. Emulger prøven ved hjælp af applikatorpinden.
*BEMÆRK: Hvis der overføres for lidt prøve, eller hvis blanding og fuldstændig opslæmning af prøven i *diluent/konjugat*-blandingen mislykkes, kan det resultere i et falsk negativt testresultat. Tilsætning af for meget fæcesprøve kan medføre ugyldige resultater som følge af begrænset prøveflow.*
- Valgfrie eksterne kontroller:**
Ekstern positiv kontrol - tilsæt én dråbe *positiv kontrol* (flaske med grå hætte) til det relevante prøveglas.
Ekstern negativ kontrol - tilsæt 25 µl *diluent* til det relevante prøveglas.
- For alle test- og kontrolprøver: luk glassene, og bland grundigt ved hjælp af en vortex-mikser eller ved at vende glasset på hovedet flere gange. Prøver eller kontroller fortyndet i *diluent/konjugat*-blandingen kan inkuberes ved rumtemperatur op til 2 timer før tilsætning til *membranenheden*.
- Åbn én pose *membranenhed* med rumtemperatur til hver fortyndet prøve og ekstern kontrol (som nødvendigt). Mærk hver enhed behørigt, og anbring den på en plan flade, så det trykte "E HISTO QUIK CHEK" er nederst på enheden, og så den lille *prøvebrønd* befinder sig i øverste højre hjørne af enheden.

Membranenhed

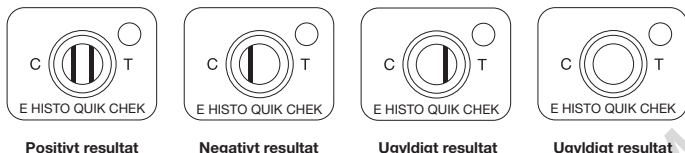
Prøvebrønd



- Sørg for, at hver enkelt fortyndet prøve er blandet grundigt (se trin 9) for tilsætning til *membranenheden*. Ved hjælp af en transferpipette overføres 500 µl (*øverste skalainddeling*) fra hvert glas til *Prøvebrønden* (det mindste hul i øverste højre hjørne af enheden) i en *Membranenhed*. Når prøven fyldes i *prøvebrønden*, skal man sikre sig, at spidsen af transferpipetten er i hullet i *prøvebrønden* og har en skrå retning mod *reaktionsvinduet*. Udtøm den fortyndede prøve på puden med vægbevirkning i *membranenheden*.

12. **Enheden inkuberes ved rumtemperatur i 15 minutter** – prøven vil trække væske igennem enheden, og et vådt område vil sprede sig hen over *Reaktionsvinduet*. Inkubationstrinnet på 15 minutter begynder, når den sidste fortyndede blanding af prøve og konjugat er blevet overført til den sidste *Membranenhed*.
BEMÆRK ANGÅENDE PROVER, HVOR VANDRING MISLYKKES:
Nu og da vandrer en fortyndet prøve ikke rigtig, og Reaktionsvinduet bliver ikke helt vådt. Hvis Reaktionsvinduet ikke ser ud til at blive helt vådt inden for 5 minutter efter tilsætning af prøven til Provebrønden, tilsættes 100 µl (4 dråber) diluent til Provebrønden. Vent yderligere 5 minutter (i alt 20 minutter). Fortsæt med Testprocedurens næste trin.
13. **Efter inkuberingen tilsættes 300 µl Vaskebuffer til det midterste Reaktionsvindue ved hjælp af den monterede hvide målepipette.** Lad Vaskebufferen blive absorberet fuldstændigt.
14. **Tilsæt 2 dråber substrat (flaske med hvid hætte) til det midterste Reaktionsvindue.**
15. Inkuber i 10 minutter ved rumtemperatur. Afslæs visuelt, og registrer resultaterne efter inkuberingen.

TOLKNING AF RESULTATER



BEMÆRK: De eksterne kontroller er kun beregnet til monitorering for grove systematiske fejl. Hvis de forventede resultater ikke ses med de positive og negative kontroller, kunne det indikere, at kontrollerne selv ikke fungerer korrekt.

1. Tolkning af testen er mest pålidelig, når enheden aflæses umiddelbart efter, reaktionen er slut, i et godt oplyst område og fra direkte over enheden i en normal arbejdsafstand.
2. **Positivt resultat:** Der ses to lodrette blå linjer, kontrollinjen på "C"-siden (venstre side) af *Reaktionsvinduet* og testlinjen på "T"-siden (højre side) af *Reaktionsvinduet*. Linjernes intensitet kan fremstå som svag til mørk - enhver linje på "T"-siden anses for positiv. Membranfarvning må ikke tolkes som et positivt resultat. Et positivt resultat indikerer forekomst af *E. histolytica* -antigen, og at der er en korrekt reaktiv positiv kontrollinje.
3. **Negativt resultat:** Der ses en enkelt lodret blå linje på "C"-siden (venstre side) af *Reaktionsvinduet*, og der ses ingen testlinje på "T"-siden af *Reaktionsvinduet*. Et negativt resultat indikerer, at *E. histolytica* -antigen enten ikke findes i prøven eller er under testens detektionsgrænse, og at der er en korrekt reaktiv positiv kontrollinje.
4. **Ugyldigt resultat:** Der ses en enkelt linje på "T"-siden af *Reaktionsvinduet*, eller der ses ingen linjer i *Reaktionsvinduet*. Testen er ugyldig, hvis der ikke findes en kontrollinje ved afslutningen af testreaktionen.

KVALITETSKONTROL

Validiteten af testresultaterne ved brug af *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen afhænger af korrekt reaktion af de interne og eksterne kontroller.

Intern: Der skal kunne ses en blå kontrollinje på "C"-siden af *Reaktionsvinduet* på hver *Membranenhed*, som testes. Dette bekræfter, at prøven og reagenserne er blevet tilsat korrekt, og at de har reageret korrekt i analysen. En klar baggrund i resultatområdet betragtes som en intern negativ kontrol. Den kan vise sig som hvid til lys blå, og eventuelle udviklede linjer vil være klart synlige.

Ekstern: Reaktiviteten af *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen skal verificeres ved modtagelsen ved hjælp af den positive kontrol og negative kontrol (diluent). Den Positive Kontrol bekræfter reaktiviteten af de andre reagenser, der er associeret med analysen, og er ikke beregnet til at sikre præcision ved analyse-cut-off. Der kan udføres yderligere test med kontrollerne for at opfylde kravene i lokale, statslige og/eller forbundsstatslige bestemmelser og/eller krav fra akkrediteringsorganisationer.

BEGRÆNSNINGER

1. Et negativt testresultat udelukker ikke muligheden for, at der findes *E. histolytica*-adhesin i prøven, hvilket kan forekomme, hvis niveauet af antigen er under testens detektionsgrænse.
2. *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen er kvalitativ. Farveintensiteten må ikke tolkes kvantitativt.

FORVENTEDE VÆRDIER

Normale, raske personer bør ikke være inficeret med *E. histolytica* og skal teste negative ved *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen. En positiv test resulterer i, at *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen indikerer, at personen spredte detekterbare mængder af *E. histolytica* -antigen. Incidensen af infektion med *E. histolytica* varierer signifikant mellem populationer og geografiske regioner. Det anslås, at *Entamoeba histolytica* inficerer omkring 50 mio. mennesker over hele verden (2). Omtrent 90 % af disse personer forbliver symptomfri, hvorimod omkring 10 % udvikler kliniske symptomer, der spænder fra gastrointestinale sygdom til leverabscesser. Højrisikogrupper omfatter personer, som har rejst i udlandet, immigranter, immunkompromitterede personer, migrantarbejdere og aktive mandlige homoseksuelle (2, 3). Ikke-patogene stammer (*E. dispar*) er prædominante hos mandlige homoseksuelle (4). Sygdommen overføres ofte af symptomfrie bærere af *E. histolytica*.

FUNKTIONSKARAKTERISTIKA

Funktionen af *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen er blevet sammenlignet med *E. HISTOLYTICA II* testen og Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* testen med uoverensstemmende prøver opløst ved hjælp af PCR. Fæcesprøverne indeholdt 449 frozne prøver. Oplysninger om alder var tilgængelige for 350 patienter. Af de 350 patienter var 87 % < 18 år. Oplysninger om køn var tilgængelige for 424 patienter, og 46 % var mænd og 54 % kvinder. Tabel 1 viser en opsummering af den kliniske funktion af *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen alle 3 steder.

Tabel 1. Opsummering af klinisk funktion med sammenligning af *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen, med *E. HISTOLYTICA II* testen og med Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* testen.

n = 449	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Positiv	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Negativ
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Positiv	94	3
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Negativ	3	349

	95 % konfidensinterval	
Procentvis positiv overensstemmelse	96,0 %	90,6 % - 99,2 %
Procentvis negativ overensstemmelse	99,1 %	97,3 % - 99,8 %
Samlet procentvis overensstemmelse	98,7 %	98,5 % - 98,9 %
*Oplost ved hjælp af PCR - Samlet procentvis overensstemmelse	99,6 %	99,6 % - 99,6 %

n = 449	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Positiv	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Negativ
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Positiv	87	10
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Negativ	24	328

	95 % konfidensinterval	
Procentvis positiv overensstemmelse	78,4 %	69,4 % - 85,4 %
Procentvis negativ overensstemmelse	97,0 %	94,5 % - 98,5 %
Samlet procentvis overensstemmelse	92,4 %	91,0 % - 93,6 %
*Oplost ved hjælp af PCR - Samlet procentvis overensstemmelse	99,3 %	99,2 % - 99,4 %

*De 40 uoverensstemmende prøver blev oplost ved hjælp af oprensning af DNA fra fæcesprøverne og polymerasekædereaktion (PCR) afkvikation til *E. histolytica*, *E. dispar* og *E. moshkovskii*.

For de 6 uoverensstemmende prøver mellem *E. HISTOLYTICA II* og *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: De 3 prøver, der var positive med *E. HISTOLYTICA II* og negative med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*, omfattede 2 *E. histolytica* PCR-positive og 1 *E. histolytica* PCR-negativ. De 3 prøver, der var negative med *E. HISTOLYTICA II* og positive med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*, var *E. histolytica* PCR-positive.

For de 34 uoverensstemmende prøver mellem Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* testen og *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: De 24 prøver, der var positive med Remel™ ProSpec™ og negative med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*, omfattede 3 *E. histolytica* PCR-positive, 13 *E. dispar* PCR-positive og 8 *Entamoeba* PCR-negative. De 10 prøver, der var negative med Remel™ ProSpec™ og positive med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*, var *E. histolytica* PCR-positive.

REPRODUCERBARHED

Reproducerbarheden af *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen blev bestemt ved hjælp af 12 fæcesprøver, som blev kodet for at forhindre identifikation af dem under testning. Testningen blev udført på 2 uafhængige laboratorier og on-site på TECHLAB®, Inc. Proverne blev testet to gange om dagen igennem en periode på 5 dage af adskillige bioanalytikere på hvert sted med brug af 2 forskellige kit-lots. Der blev kørt en positiv og en negativ kontrol sammen med hvert panel af de maskerede prøver. Resultaterne fra hvert enkelt laboratorium blev indsendt til TECHLAB®, Inc. og sammenlignet med interne resultater. Resultaterne var konsistente mellem forskellige lokationer og udviste en korrelation på 100 %. Proverne gav de forventede resultater 100 % af tiden.

KRYDSREAKTIVITET

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK testen blev evalueret for krydsreaktivitet med de bakterie- og virusstammer, der er anført herunder. Ingen af stammerne påvises at interferere med funktionen af *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	

Adenovirus 2, 5, 40, 41	Humant adenovirus 1, 3	Humant enterovirus 69, 70, 71
Coxsackievirus B5	Humant coronavirus	Humant parechovirus 1
Echovirus 11, 18, 22, 33	Humant coxsackievirus B2, B3, B4	[echovirus 22]
Enterovirus 68, 69	Humant echovirus 9	Humant rotavirus

Desuden blev *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen kørt på fæcesprøver, der var dokumenteret positive, for andre parasitter ved hjælp af mikroskopi. Der sås ingen krydsreaktivitet med de følgende organismer:

<i>Entamoeba coli</i>	<i>Chilomastix mesnili</i>	<i>Hageorme</i> -æg
<i>Entamoeba dispar</i>	<i>Cyclospora</i> spp.	<i>Iodamoeba bütschlii</i>
<i>Entamoeba moshkovskii</i>	<i>Endolimax nana</i>	<i>Trichomonas hominis</i>
<i>Ascaris lumbricoides</i> -æg	<i>Giardia</i> spp.	<i>Trichuris trichiura</i> -æg
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Hymenolepis nana</i>	

FORSTYRRENDE STOFFER (USA-FORMULERING)

De følgende stoffer (USA-formulering) havde ingen virkning på positive og negative testresultater, når de blev analyseret ved de angivne koncentrationer: Gastrisk mucin fra svin (3,5 % w/v), humant blod (40 % v/v), hydrokortison (40 % v/v), bariumsulfat (5 % w/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), Maalox® Advanced (5 % v/v), stearinsyre (40 % w/v), palmitinsyre (40 % w/v), Metronidazol (0,25 % w/v), Phenylephrin (40 % w/v), Naproxennatrium (40 % w/v), Nonoxynol-9 (40 % v/v), Vancomycin (0,25 % w/v), Priolsec OTC® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), Tagamet® (5 µg/ml), Ciprofloxacin (0,25 % w/v), Mylanta® (4,2 mg/ml) og human urin (5 % v/v).

PRÆCISION - INTRA-ASSAY

Med henblik på bestemmelse af intra-assay-funktion blev tolv humane fæcesprøver analyseret med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen. Af disse tolv prøver var seks positive for *E. histolytica* på forskellige niveauer (lavt, moderat og højt), og seks var negative for *E. histolytica*. Hver prøve blev analyseret fem gange i samme testkørsel med brug af to forskellige kit-lots. Der blev kørt en positiv og en negativ kontrol med hvert panel. Alle positive prøver forblev positive, og alle negative prøver forblev negative.

PRÆCISION – INTER-ASSAY

Til bestemmelse af inter-assay-funktion blev tolv humane fæcesprøver analyseret ved hjælp af *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen. Af disse tolv prøver var seks positive for *E. histolytica* på forskellige niveauer (lavt, moderat og højt), og seks var negative for *E. histolytica*. Prøverne blev testet to gange om dagen af adskillige bioanalytikere igennem en periode på 12 dage med brug af 2 forskellige kit-lots. Der blev kørt en positiv og en negativ kontrol hver dag. Alle positive prøver forblev positive, og alle negative prøver forblev negative.

ANALYSEFØLSOMHED

Detektionsgrænsen (LoD) for *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testen blev fastsat ved en koncentration på 0,2 ng/ml for *E. histolytica*-adhesin.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

ΕΝΔΕΔΕΙΓΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Η εξέταση TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ είναι μια ταχεία ανάλυση ενζυμικού ανοσοπροσδιορισμού σε μεμβράνη για την ποιοτική ανίχνευση της προσκολλητίνης από το πρωτόζωο *Entamoeba histolytica* σε μία καρέτα μίας χρήσης. Προορίζεται για χρήση μαζί με δείγματα ανθρώπινων κοπράνων από ασθενείς με διάρροια ή δυσεντερία, ως ένα βοηθητικό μέσο για τη διάγνωση της γαστρεντερικής λοίμωξης από *E. histolytica*. Τα αποτελέσματα της εξέτασης θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με το ιστορικό του ασθενούς.

ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Η *Entamoeba histolytica* και η *Entamoeba dispar* είναι εντερικά παράσιτα τα οποία μολύνουν περίπου μισό δισεκατομμύριο ανθρώπων παγκοσμίως κάθε χρόνο (1). Η διάκριση μεταξύ των δύο ειδών είναι απαραίτητη, επειδή η *E. histolytica* είναι παθογόνος και προκαλεί εντερική αμοιβάδωση (π.χ. διάρροια, δυσεντερία, κολιτίδα) και εξωεντερική αμοιβάδωση (π.χ. ηπατικό απόστημα). Η *E. dispar* δεν συσχετίζεται με συμπτωματική νόσο και τυχόν μη ακριβής διάγνωση μπορεί να οδηγήσει σε μη απαραίτητη θεραπεία. Η πιο κοινή μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη διάγνωση της αμοιβάδωσης είναι η μικροσκοπική εξέταση νεοπυκνωτού παρασκευάσματος, η οποία όμως έχει χαμηλή ευαισθησία και ειδικότητα. Οι τροφολογικές και οι κύστες δεν προσδιορίζονται εύκολα σε ένα απλό δείγμα κοπράνων και είναι δύσκολη η οπτική διάκριση μεταξύ της *E. dispar* και της *E. histolytica* κατά την παρατήρηση. Η ανίχνευση των ειδών *Entamoeba* με ανοσοπροσδιορισμό παρέχει μια εναλλακτική μέθοδο διάγνωσης με μεγαλύτερη ευαισθησία (2). Οι ανοσοπροσδιορισμοί ειδικά για την *E. histolytica*, όπως η εξέταση E. HISTOLYTICA QUIK CHEK, παρέχουν το πρόσθετο πλεονέκτημα ότι προσδιορίζουν μόνο τις λοιμώξεις από *E. histolytica*. Μεγάλο πλήθος δειγμάτων μπορεί να εξετασθεί γρήγορα και αντικειμενικά, ενώ η διαδικασία απαιτεί λιγότερη εργασία από τις περισσότερες άλλες μεθόδους διάγνωσης.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Η εξέταση E. HISTOLYTICA QUIK CHEK χρησιμοποιεί αντισώματα ειδικά για την *E. histolytica*. Η μεμβρανική συσκευή περιέχει ένα παράθυρο αντίδρασης με δύο κατακόρυφες γραμμές ακινητοποιημένων αντισωμάτων. Η γραμμή εξέτασης ("T") περιέχει μονόκλωνα αντισώματα ειδικά για την προσκολλητίνη της *E. histolytica*. Η γραμμή ελέγχου ("C") περιέχει αντισώματα έναντι υπεροξειδάσης από ραφανίδα (HRP). Το σύζευγμα αποτελείται από αντισώματα έναντι της *E. histolytica* συζευγμένα με υπεροξειδάση από ραφανίδα. Για την εκτέλεση της εξέτασης, το δείγμα προστίθεται σε έναν αψήληνα που περιέχει ένα μείγμα αραιωτικού και συζεύγματος. Το μείγμα αραιωμένου δείγματος-συζεύγματος προστίθεται στην κυψέλιδα δείγματος και η συσκευή επωάζεται σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά. Κατά τη διάρκεια της επώασης, η προσκολλητίνη της *E. histolytica* που τυχόν περιέχεται στο δείγμα δεσμεύεται στο σύζευγμα αντισωματος-υπεροξειδάσης. Τα σύμπλοκα αντιγόνου-αντισώματος-υπεροξειδάσης μετακινούνται μέσω ενός φίλτρου πάνω σε μια μεμβράνη, όπου δεσμεύονται από τα ακινητοποιημένα αντισώματα αντι-προσκολλητίνης στη γραμμή. Κατόπιν, το παράθυρο αντίδρασης πλένεται με ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης και, στη συνέχεια, προστίθεται το υπόστρωμα. Μετά από μια περίοδο επώασης 10 λεπτών, το παράθυρο αντίδρασης εξετάζεται οπτικά για τυχόν εμφανή κατακόρυφες μπλε γραμμές στις πλευρές "C" και "T" του παραθύρου αντίδρασης. Μια μπλε γραμμή στην πλευρά "T" του παραθύρου αντίδρασης δηλώνει θετικό αποτέλεσμα. Μια θετική αντίδραση "C", η οποία δηλώνεται από μια κατακόρυφη μπλε γραμμή στην πλευρά "C" του παραθύρου αντίδρασης, παρακολουθεί/επιβεβαιώνει ότι το δείγμα και τα αντιδραστήρια προστέθηκαν σωστά, τα αντιδραστήρια ήταν δραστήρια τη στιγμή της εκτέλεσης της εξέτασης και οι δείγμα μετακινήθηκε σωστά μέσω της μεμβρανικής συσκευής. Επίσης, επιβεβαιώνει την αντιδραστικότητα των άλλων αντιδραστηρίων που σχετίζονται με την ανάλυση.

ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

MEM DEV	Μεμβρανικές συσκευές – Κάθε θύλακας περιέχει 1 συσκευή
CONJ ENZ	Σύζευγμα (2 mL) – Αντίσωμα ειδικό για την <i>E. histolytica</i> συζευγμένο με υπεροξειδάση από ραφανίδα σε ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεΐνης
DIL SPE	Αραιωτικό (16 mL) – Ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεΐνης με μαύρο διαβαθμισμένο σταγονόμετρο
CONTROL +	Θετικός ορός ελέγχου (1 mL) – Αντιγόνο <i>E. histolytica</i> σε ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεΐνης
SUBS REAG	Υπόστρωμα (3,5 mL) – Διάλυμα που περιέχει τετραμεθυλοβενζιδίνη
WASH REAG	Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (12 mL) – Ρυθμιστικό διάλυμα με λευκό διαβαθμισμένο σταγονόμετρο
IVD	Πλαστικές πιπέτες μίας χρήσης (50) – Διαβαθμισμένες στα 25 μL, 100 μL, 200 μL, 300 μL, 400 μL και 500 μL In Vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Μικροί δοκιμαστικοί σωλήνες (π.χ. πλαστικοί σωλήνες μικροφυγοκέντρωσης)	Ξύλινα ραβδία εφαρμογής
Γάντια μίας χρήσης	Σύστημα πιπετών και ρύγχη
	Χρόνομετρο

ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

Η ημερομηνία λήξης του kit αναγράφεται στην επέκτα πάνω στο κουτί. Το kit πρέπει να φυλάσσεται σε θερμοκρασία από 2°C έως 8°C. Να επιστρέψετε το kit στο ψυγείο το συντομότερο δυνατό μετά τη χρήση.

ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

- Κατά την παραλαβή, ελέγξτε το kit για να βεβαιωθείτε ότι τα συστατικά δεν είναι παγωμένα ή θερμά στην αφή λόγω ακατάλληλων συνθηκών αποστολής και ότι δεν υπάρχουν ενδείξεις διαρροής.
- Φέρτε όλα τα συστατικά σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση, ώστε να διασφαλιστεί η σωστή αντιδραστικότητα του kit.
- Το υπόστρωμα θα πρέπει να είναι άχρωμο. Εάν το υπόστρωμα γίνει σκούρο μπλε/μωβ, απορρίψτε το και καλέστε την τεχνική υποστήριξη για αντικατάσταση.
- Μην αναμειγνύετε αντιδραστήρια από διαφορετικά kit και μην τα εναλλάσσετε μεταξύ τους. Μην χρησιμοποιείτε ένα kit μετά το πέρας της ημερομηνίας λήξης.
- Τα πώματα, τα ρύγχη και τα σταγονόμετρα φέρουν χρωματική κωδικοποίηση. ΜΗΝ τα αναμειγνύετε και ΜΗΝ τα εναλλάσσετε μεταξύ τους!
- Χρησιμοποιείτε τα δείγματα κοπράνων εντός 72 ωρών από τη συλλογή τους για να επιτύχετε τα βέλτιστα αποτελέσματα. Τα δείγματα που έχουν καταψυχθεί ενδέχεται να χάσουν την αντιδραστικότητά τους λόγω της ψύξης και της απόψυξης.

- Η εξέταση έχει βελτιστοποιηθεί για ευαισθησία και ειδικότητα. Τυχόν τροποποιήσεις της καθορισμένης διαδικασίας ή/και των συνθηκών της εξέτασης ενδέχεται να επηρεάσουν την ευαισθησία και την ειδικότητα της εξέτασης. Μην αποκλίνετε από την καθορισμένη διαδικασία.
- Τα δείγματα κοπράνων και οι χρησιμοποιούμενες μεμβρανικές συσκευές ενδέχεται να περιέχουν δυνητικά λοιμογόνους παράγοντες και δεν πρέπει να υποβάλλονται σε χειρισμό στο "Επίπεδο βιοασφάλειας 2", όπως συνιστάται στο εγχειρίδιο "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" (Βιοασφάλεια σε μικροβιολογικά και βιοϊατρικά εργαστήρια) του Κέντρου ελέγχου και πρόληψης νοσημάτων (CDC) /Εθνικού Ινστιτούτου Υγείας (NIH) των Η.Π.Α. Να φοράτε γάντια μίας χρήσης κατά την εκτέλεση της εξέτασης.
- Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΟΠΡΑΝΩΝ

Αποδεκτοί τύποι δειγμάτων
Νωπά δείγματα κοπράνων
Κατεψυγμένα δείγματα κοπράνων (κατεψυγμένα μη αραιωμένα)

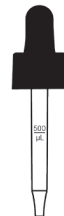
Μην χρησιμοποιείτε
Δείγματα κοπράνων σε μονιμοποιητικό διάλυμα με βάση τη φορμαλίνη (π.χ. φορμαλίνη με οξικό νάτριο, 10% φορμαλίνη)
Δείγματα κοπράνων σε μονιμοποιητικό διάλυμα με βάση την αλκοόλη (π.χ. πολυβινυλική αλκοόλη)
Δείγματα κοπράνων σε υλικό μεταφοράς (π.χ. Cary Blair)

- Χρησιμοποιείτε τυπικές διαδικασίες συλλογής και χειρισμού που εφαρμόζονται εντός των εργαστηρίων για τα δείγματα κοπράνων. Να συλλέγετε τα δείγματα κοπράνων σε καθαρούς, στεγανούς περιέκτες. Να φυλάσσετε τα νωπά δείγματα κοπράνων σε θερμοκρασία από 2°C έως 8°C για έως και 72 ώρες. Εάν η εξέταση δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί εντός 72 ωρών από τη συλλογή, καταψύξτε τα δείγματα και φυλάξτε τα σε θερμοκρασία ≤ -10°C. Η εξέταση πρέπει να γίνεται με δείγματα που δεν είναι παλαιότερα των 24 ωρών, όποτε αυτό είναι εφικτό.
- Θα πρέπει να αποφεύγονται οι επαναλαμβανόμενοι κύκλοι ψύξης/απόψυξης. Σε περίπτωση χρήσης καταψυγμένων δειγμάτων, αποψύξτε τα σε θερμοκρασία δωματίου.
- Μη φυλάσσετε τα δείγματα κοπράνων μέσα στο αραιωτικό.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

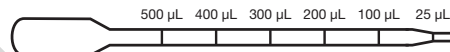
- Δώστε προσοχή στο συνολικό χρόνο της ανάλυσης κατά την εξέταση περισσότερων του ενός δειγμάτων κοπράνων.
- Φέρτε όλα τα αντιδραστήρια και τις συσκευές σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Αφαιρέστε τα αντιδραστήρια από το αφρώδες περιβλήμα για να μειώσετε το χρονικό διάστημα που απαιτείται για τη θέρμανσή τους, προκειμένου να φτάσουν στη θερμοκρασία δωματίου
- Τοποθετήστε σε όρθια θέση και επισημάνετε με ετικέτα έναν μικρό δοκιμαστικό σωλήνα για κάθε δείγμα και για τον προαιρετικό εξωτερικό ορό έλεγχου.**
- Προσθέστε 500 μL αραιωτικού σε κάθε σωλήνα χρησιμοποιώντας το μαύρο διαβαθμισμένο σταγονόμετρο.**

Τύπος δείγματος	Όγκος αραιωτικού
Νωπά δείγματα κοπράνων	500 μL
Κατεψυγμένα δείγματα κοπράνων (κατεψυγμένα μη αραιωμένα)	500 μL



- Προσθέστε μία σταγόνα συζεύγματος (φιάλη με κόκκινο πώμα) σε κάθε σωλήνα.** Κρατήστε τη φιάλη του σταγονόμετρου κατακόρυφα, ώστε να διασφαλιστεί το σωστό μέγεθος σταγόνας. Το αραιωτικό και το συζύγωμα θα πρέπει να προστεθούν σε όλους τους σωλήνες πριν από την προσθήκη των δειγμάτων.
- Χρησιμοποιήστε μία πλαστική πιπέτα μεταφοράς μίας χρήσης (παρέχεται με το kit) για κάθε δείγμα.

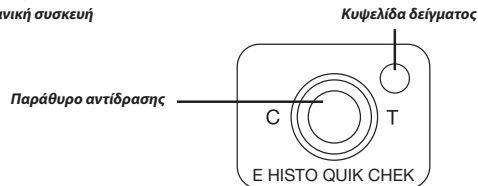
Διαβαθμισμένη πιπέτα μεταφοράς:



- Για υγρά/ημιστερεά δείγματα** - Αναμείξτε το δείγμα πολύ καλά. Χρησιμοποιώντας μια πιπέτα μεταφοράς, προσθέστε 25 μL δείγματος στο μείγμα αραιωτικού/συζεύγματος στο σωλήνα.
Για σχηματισμένα/στερεά δείγματα - Αναμείξτε το δείγμα πολύ καλά χρησιμοποιώντας ένα ξύλινο ραβδί εφαρμογής και μεταφέρετε μια μικρή ποσότητα (διαμέτρου περίπου 2 mm που ισοδυναμεί με 25 μL) του δείγματος στο μείγμα αραιωτικού/συζεύγματος. Γαλακτωματοποιήστε το δείγμα χρησιμοποιώντας το ραβδί εφαρμογής.
ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Η μεταφορά πολύ μικρής ποσότητας δείγματος ή η παράλειψη ανάμειξης και πλήρους εναιώρησης του δείγματος στο μείγμα αραιωτικού/συζεύγματος ενδέχεται να οδηγήσει σε ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα της εξέτασης. Η προσθήκη υπερβολικής ποσότητας δείγματος ενδέχεται να οδηγήσει σε μη έγκυρα αποτελέσματα λόγω περιορισμένης ροής.
- Προαιρετικός εξωτερικός ορός έλεγχου:**
Εξωτερικός θετικός ορός έλεγχου - προσθέστε μία σταγόνα θετικού ορού έλεγχου (φιάλη με γκρι πώμα) στον κατάλληλο δοκιμαστικό σωλήνα.
Εξωτερικός αρνητικός ορός έλεγχου - προσθέστε 25 μL αραιωτικού στον κατάλληλο δοκιμαστικό σωλήνα.
- Για όλα τα δείγματα εξέτασης και ορού έλεγχου, κλείστε τους σωλήνες και αναμείξτε πολύ καλά χρησιμοποιώντας αναμεικτή vortex ή αναστρέφοντας τους σωλήνες μερικές φορές. Δείγματα ή οροί έλεγχου που έχουν αραιωθεί στο μείγμα αραιωτικού/συζεύγματος μπορούν να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου έως και 2 ώρες πριν από την προσθήκη στη μεμβρανική συσκευή.

10. Ανοίξετε ένα πακέτο **μεμβρανική συσκευή** σε θερμοκρασία δωματίου για κάθε αραιωμένο δείγμα και εξωτερικό ορό ελέγχου (όπως απαιτείται). Επισημάνετε κάθε συσκευή με την κατάλληλη ετικέτα και τοποθετήστε την πάνω σε επίπεδη επιφάνεια, έτσι ώστε η επιγραφή "E HISTO QUIK CHEK" να βρίσκεται στην κάτω πλευρά της συσκευής και η μικρή **κυψελίδα δείγματος** να βρίσκεται στην επάνω δεξιά γωνία της συσκευής.

Μεμβρανική συσκευή



11. Βεβαιωθείτε ότι κάθε αραιωμένο δείγμα έχει αναδευθεί καλά (βλ. βήμα 9) προτού το προσθέσετε στη **μεμβρανική συσκευή**. **Χρησιμοποιώντας μια νέα πιπέτα μεταφοράς, μεταφέρετε 500 μL (ανώτερη διαβάθμιση) από κάθε σωλήνα μέσα στην κυψελίδα δείγματος (μικρότερη οπή στην επάνω δεξιά γωνία της συσκευής) μιας μεμβρανικής συσκευής.** Κατά την προσθήκη του δείγματος μέσα στην κυψελίδα δείγματος, βεβαιωθείτε ότι το ρύγχος της πιπέτας μεταφοράς βρίσκεται μέσα στην οπή της κυψελίδας δείγματος και είναι στραμμένο προς το παράθυρο αντίδρασης. Αποβάλετε το αραιωμένο δείγμα πάνω στο τμήμα απορρόφησης μέσα στη μεμβρανική συσκευή.

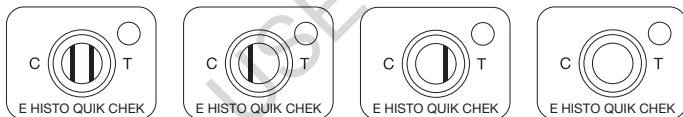
12. **Επώστε τη συσκευή σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά** – το δείγμα θα απορροφηθεί μέσω της συσκευής και μια υγρή περιοχή θα εμφανιστεί κατά πλάτος του παραθύρου αντίδρασης. Το βήμα της 15λεπτης επώσεως πρέπει να ξεκινήσει αφού έχετε μεταφέρει και το τελευταίο αραιωμένο μείγμα δείγματος-συζεύγματος στην τελευταία μεμβρανική συσκευή.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ ΓΙΑ ΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΠΟΥ ΔΕΝ ΜΕΤΑΚΙΝΟΥΝΤΑΙ:

Σε μερικές περιπτώσεις, ένα αραιωμένο δείγμα δεν μετακινείται σωστά και το παράθυρο αντίδρασης δεν είναι υγρό σε όλη την έκτασή του. Αν το παράθυρο αντίδρασης δεν φαίνεται να έχει υγρανθεί πλήρως σε διάστημα 5 λεπτών από την προσθήκη του δείγματος στην κυψελίδα δείγματος, τότε προσθέστε 100 μL (4 σταγόνες) αραιωτικού στην κυψελίδα δείγματος και περιμένετε ακόμα 5 λεπτά (συνολικά 20 λεπτά). Συνεχίστε με το επόμενο βήμα της διαδικασίας εξέτασης.

13. **Μετά από την επώαση, προσθέστε 300 μL ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης στο κεντρικό παράθυρο αντίδρασης** χρησιμοποιώντας το λευκό διαβαθμισμένο σταγονόμετρο. Αφήστε το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης να απορροφηθεί πλήρως.
14. **Προσθέστε 2 σταγόνες υποστρώματος (φιάλη με λευκό πύμα) στο κεντρικό παράθυρο αντίδρασης.**
15. Επώστε για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά από την επώαση, διαβάστε και καταγράψτε τα αποτελέσματα.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ



Θετικό αποτέλεσμα

Αρνητικό αποτέλεσμα

Μη έγκυρο αποτέλεσμα

Μη έγκυρο αποτέλεσμα

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Οι εξωτερικοί οροί ελέγχου προορίζονται για την παρακολούθηση μόνο των μεγάλων συστηματικών σφαλμάτων. Αν τα αναμενόμενα αποτελέσματα δεν επιτυγχάνονται με τον θετικό και τον αρνητικό ορό ελέγχου, αυτό μπορεί να υποδηλώνει ότι οι ίδιοι οι οροί ελέγχου δεν λειτουργούν σωστά.

- Η ερμηνεία της εξέτασης είναι πιο αξιόπιστη όταν η ανάγνωση της συσκευής γίνεται αμέσως μετά το τέλος της αντίδρασης, σε καλά φωτισμένη περιοχή και ακριβώς πάνω από τη συσκευή, σε κανονική απόσταση εργασίας.
- Θετικό αποτέλεσμα:** Δύο κατακόρυφες μπλε γραμμές είναι ορατές, η γραμμή ελέγχου στην πλευρά "C" (αριστερά) του παραθύρου αντίδρασης και η γραμμή εξέτασης στην πλευρά "T" (δεξιά) του παραθύρου αντίδρασης. Οι γραμμές μπορεί να εμφανίζονται από αχνές έως έντονες - οποιαδήποτε γραμμή στην πλευρά "T" θεωρείται θετικό αποτέλεσμα. Μην ερμηνεύετε τον αποχρωματισμό της μεμβράνης ως θετικό αποτέλεσμα. Ένα θετικό αποτέλεσμα υποδηλώνει την παρουσία του αντιγόνου *E. histolytica* και ότι υπάρχει μια γραμμή σωστά δραστικού θετικού ορού ελέγχου.
- Αρνητικό αποτέλεσμα:** Μια μονή κατακόρυφη μπλε γραμμή είναι ορατή στην πλευρά "C" (αριστερά) του παραθύρου αντίδρασης και δεν υπάρχει γραμμή εξέτασης στην πλευρά "T" του παραθύρου αντίδρασης. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα υποδηλώνει είτε ότι δεν υπάρχει αντιγόνο *E. histolytica* στο δείγμα είτε ότι βρίσκεται κάτω από το όριο ανίχνευσης της εξέτασης και ότι υπάρχει μια γραμμή σωστά δραστικού θετικού ορού ελέγχου.
- Μη έγκυρο αποτέλεσμα:** Μια μονή γραμμή εμφανίζεται στην πλευρά "T" του παραθύρου αντίδρασης ή δεν εμφανίζονται γραμμές στο παράθυρο αντίδρασης. Η εξέταση δεν είναι έγκυρη, εάν δεν υπάρχει γραμμή ελέγχου κατά την ολοκλήρωση της αντίδρασης της εξέτασης.

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων της εξέτασης *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* εξαρτάται από τη σωστή αντίδραση του εσωτερικού και του εξωτερικού ορού ελέγχου.

Εσωτερικός: Μια κατακόρυφη μπλε γραμμή ελέγχου πρέπει να είναι ορατή στην πλευρά "C" του παραθύρου αντίδρασης σε κάθε μεμβρανική συσκευή που εξετάζεται. Έτσι επιβεβαιώνεται ότι το δείγμα και τα αντιδραστήρια προστέθηκαν σωστά και αντιδράσαν κατάλληλα κατά την εξέταση. Το διαυγές φόντο στην περιοχή αποτελεσμάτων θεωρείται ως εσωτερικός αρνητικός έλεγχος. Μπορεί να φαίνεται λευκό έως γαλάζιο και τυχόν γραμμές που έχουν αναπτυχθεί θα είναι ευκρινώς ορατές.

Εξωτερικός: Η αντιδραστικότητα της εξέτασης *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* θα πρέπει να επαληθεύεται κατά την παραλαβή με τη χρήση του θετικού ορού ελέγχου και του αρνητικού ορού ελέγχου (αραιωτικό). Ο θετικός ορός ελέγχου επιβεβαιώνει την αντιδραστικότητα των άλλων αντιδραστηρίων που σχετίζονται με την ανάλυση και δεν προορίζεται για τη διασφάλιση της ακρίβειας των οριακών τιμών της ανάλυσης. Μπορούν να εκτελεστούν πρόσθετες εξετάσεις με τους ορούς ελέγχου, προκειμένου να επιτευχθεί συμμόρφωση με τις απαιτήσεις των τοπικών, περιφερειακών ή/και κρατικών κανονισμών ή/και των οργανισμών πιστοποίησης.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ

1. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα εξέτασης δεν αποκλείει την πιθανότητα παρουσίας προσκολλητίνης *E. histolytica* στο δείγμα, το οποίο μπορεί να συμβεί εάν το επίπεδο του αντιγόνου είναι κάτω από το όριο ανίχνευσης της εξέτασης.
2. Η εξέταση *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* είναι ποιοτική. Η ένταση του χρώματος δεν θα πρέπει να ερμηνεύεται ποσοτικά.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

Φυσιολογικά υγιή άτομα δεν θα πρέπει να έχουν μολυνθεί με *E. histolytica* και το αποτέλεσμα της εξέτασης *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* θα πρέπει να είναι αρνητικό. Ένα θετικό αποτέλεσμα στην εξέταση *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* δηλώνει ότι το άτομο αποβάλλει ανιχνεύσιμες ποσότητες αντιγόνου *E. histolytica*. Η εμφάνιση της λοίμωξης *E. histolytica* ποικίλλει σημαντικά ανάλογα με τον πληθυσμό και τη γεωγραφική περιοχή. Εκτιμάται ότι η *Entamoeba histolytica* προσβάλλει περίπου 50 εκατομμύρια ανθρώπους παγκοσμίως (2). Περίπου το 90% αυτών των ατόμων δεν εμφανίζει συμπτώματα, ενώ περίπου το 10% εμφανίζει κλινικά συμπτώματα τα οποία αφορούνται από γαστρεντερική νόσο έως ηπατικά αποστήματα. Στις ομάδες υψηλού κινδύνου ανήκουν άτομα που έχουν ταξιδέψει στο εξωτερικό, μετανάστες, άτομα με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα, διακινούμενοι εργαζόμενοι και ενεργοί ομοφυλόφιλοι άνδρες (2, 3). Τα μη παθογόνα στελέχη (*E. dispar*) είναι επικρατέστερα μεταξύ ομοφυλόφιλων ανδρών (4). Η νόσος συχνά μεταδίδεται από ασυμπτωματικούς φορείς της *E. histolytica*.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Η απόδοση της εξέτασης *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* συγκρίθηκε με την εξέταση *E. HISTOLYTICA II* και την εξέταση Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* και τα ασύμφωνα δείγματα επιλύθηκαν με PCR. Τα δείγματα κοπράνων περιελάμβαναν 449 κατεψυγμένα δείγματα. Πληροφορίες για την ηλικία ήταν διαθέσιμες για 350 ασθενείς. Από τους 350 ασθενείς, το 87% ήταν < 18 ετών. Πληροφορίες για το φύλο ήταν διαθέσιμες για 424 ασθενείς και το 46% ήταν άνδρες και το 54% γυναίκες. Ο πίνακας 1 δείχνει μια σύνοψη της κλινικής απόδοσης της εξέτασης *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* και στις 3 τοποθεσίες.

Πίνακας 1. Σύνοψη της κλινικής απόδοσης με σύγκριση της εξέτασης *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* με την εξέταση *E. HISTOLYTICA II* και με την εξέταση Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica*.

n = 449	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Θετικό	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Αρνητικό
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Θετικό	94	3
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Αρνητικό	3	349
Διάστημα εμπιστοσύνης 95%		
Ποσοστό συμφωνίας θετικών	96,9%	90,6% - 99,2%
Ποσοστό συμφωνίας αρνητικών	99,1%	97,3% - 99,8%
Συνολικό ποσοστό συμφωνίας	98,7%	98,5% - 98,9%
*Επιλύθηκαν με PCR – Συνολικό ποσοστό συμφωνίας	99,6%	99,6% - 99,6%

n = 449	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Θετικό	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Αρνητικό
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Θετικό	87	10
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Αρνητικό	24	328

Διάστημα εμπιστοσύνης 95%		
Ποσοστό συμφωνίας θετικών	78,4%	69,4% - 85,4%
Ποσοστό συμφωνίας αρνητικών	97,0%	94,5% - 98,5%
Συνολικό ποσοστό συμφωνίας	92,4%	91,0% - 93,6%
*Επιλύθηκαν με PCR – Συνολικό ποσοστό συμφωνίας	99,3%	99,2% - 99,4%

*Τα 40 ασύμφωνα δείγματα επιλύθηκαν με καθαρισμό DNA από τα δείγματα κοπράνων και με ενίσχυση αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) για την *E. histolytica*, την *E. dispar* και την *E. moshkovskii*.

Για τα 6 ασύμφωνα δείγματα μεταξύ *E. HISTOLYTICA II* και *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: Τα 3 δείγματα που ήταν θετικά κατά *E. HISTOLYTICA II* και αρνητικά κατά *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* περιλάμβαναν 2 θετικά για *E. histolytica* με PCR και 1 αρνητικό για *E. histolytica* με PCR. Τα 3 δείγματα που ήταν αρνητικά κατά *E. HISTOLYTICA II* και θετικά κατά *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* ήταν θετικά για *E. histolytica* με PCR.

Για τα 34 ασύμφωνα δείγματα μεταξύ της εξέτασης Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* και της *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: Τα 24 δείγματα που ήταν θετικά κατά Remel™ ProSpec™ και αρνητικά κατά *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* περιλάμβαναν 3 θετικά για *E. histolytica* με PCR, 13 θετικά για *E. dispar* με PCR και 8 αρνητικά για *Entamoeba* με PCR. Τα 10 δείγματα που ήταν αρνητικά κατά Remel™ ProSpec™ και θετικά κατά *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* ήταν θετικά για *E. histolytica* με PCR.

ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ

Η αναπαραγωγιμότητα της εξέτασης *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* προσδιορίστηκε με τη χρήση 12 δειγμάτων κοπράνων, τα οποία κωδικοποιήθηκαν ώστε να μην είναι δυνατή η αναγνώρισή τους κατά την εξέταση. Οι εξετάσεις εκτελέστηκαν σε 2 ανεξάρτητα εργαστήρια και στα εργαστήρια της TECHLAB®, Inc. Τα δείγματα εξετάστηκαν δύο φορές την ημέρα για μια περίοδο 5 ημερών από περισσότερους από έναν τεχνικούς σε κάθε τοποθεσία με τη χρήση 2 διαφορετικών παρτίδων κπ. Ένας θετικός και ένας αρνητικός ορός ελέγχου συμπεριλήφθηκε στην κάθε ομάδα των κρυφών δειγμάτων. Τα αποτελέσματα από το κάθε εργαστήριο υπαβλήθηκαν στην TECHLAB®, Inc. και συγκρίθηκαν με τα εσωτερικά αποτελέσματα. Τα αποτελέσματα ήταν συνεπή μεταξύ των διαφορετικών τοποθεσιών και επέδειξαν συσχέτιση 100%. Τα δείγματα απέδωσαν τα αναμενόμενα αποτελέσματα στο 100% των εξετάσεων.

ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ

Η εξέταση *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* αξιολογήθηκε για διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με τα στελέχη βακτηρίων και ιών που παρατίθενται παρακάτω. Κανένα από τα στελέχη δεν έδειξε να επηρεάζει την απόδοση της εξέτασης *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Clostridium bifementans</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	

Adenovirus, 2, 5, 40, 41	Human Adenovirus 1, 3	Human Enterovirus 69, 70, 71
Coxsackievirus B5	Human Coronavirus	Human parechovirus 1
Echovirus 11, 18, 22, 33	Human Coxsackievirus B2, B3, B4	[Echovirus 22]
Enterovirus 68, 69	Human Echovirus 9	Human Rotavirus

Επιπλέον, η εξέταση *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* πραγματοποιήθηκε σε δείγματα κοπράνων που τεκμηριώθηκαν ως θετικά για άλλα παράσιτα με μικροσκοπία. Δεν διαπιστώθηκε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με τους ακόλουθους.

<i>Entamoeba coli</i>	<i>Chilomastix mesnili</i>	Αυγά Hookworm
<i>Entamoeba dispar</i>	Είδος Cyclospora	<i>Iodamoeba bütschlii</i>
<i>Entamoeba moshkovskii</i>	<i>Endolimax nana</i>	<i>Trichomonas hominis</i>
Αυγά Ascaris lumbricoides	Είδος Giardia	Αυγά Trichuris trichiura
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Hymenolepis nana</i>	

ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΟΥΣΕΣ ΟΥΣΙΕΣ (ΤΥΠΟΠΟΙΗΣΗ Η.Π.Α.)

Οι ακόλουθες ουσίες δεν είχαν καμία επίδραση στα θετικά ή αρνητικά αποτελέσματα της εξέτασης που αναλύθηκαν στις συγκεντρώσεις που υποδεικνύονται: γαστρική βλεννίνη χοίρου (3,5% w/v), ανθρώπινο αίμα (40% v/v), υδροκορτιζόνη (40% v/v), θειικό βάριο (5% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Maalox® Advanced (5% v/v), στεατικό οξύ (40% w/v), παλμτικό οξύ (40% w/v), μετρονιδαζόλη (0,25% w/v), φαινυλεφρίνη (40% w/v), Naproxen Sodium (40% w/v), Nonoxonyl-9 (40% v/v), βανκομυκίνη (0,25% w/v), Priolsec OTC® (5 µg/mL), TUMS (50 µg/mL), Tagamet® (5 µg/mL), σιπροφλοξακίνη (0,25% w/v), Mylanta® (4,2 mg/mL) και ανθρώπινα ούρα (5% v/v).

ΑΚΡΙΒΕΙΑ – ΕΝΤΟΣ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Για τον προσδιορισμό της απόδοσης εντός της ανάλυσης, δώδεκα δείγματα ανθρώπινων κοπράνων αναλύθηκαν με την εξέταση *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Από τα δώδεκα δείγματα, έξι ήταν θετικά για *E. histolytica* σε διάφορα επίπεδα (χαμηλό, μέτριο και υψηλό) και έξι ήταν αρνητικά για *E. histolytica*. Κάθε δείγμα αναλύθηκε πέντε φορές στην ίδια εκτέλεση της δοκιμής, με τη χρήση δύο διαφορετικών παρτίδων κιτ. Με την κάθε ομάδα χρησιμοποιήθηκε ένας θετικός και ένας αρνητικός ορός ελέγχου. Όλα τα θετικά δείγματα παρέμειναν θετικά και όλα τα αρνητικά δείγματα παρέμειναν αρνητικά.

ΑΚΡΙΒΕΙΑ – ΜΕΤΑΞΥ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

Για τον προσδιορισμό της απόδοσης μεταξύ των αναλύσεων, δώδεκα δείγματα ανθρώπινων κοπράνων αναλύθηκαν με την εξέταση *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Από τα δώδεκα δείγματα, έξι ήταν θετικά για *E. histolytica* σε διάφορα επίπεδα (χαμηλό, μέτριο και υψηλό) και έξι ήταν αρνητικά για *E. histolytica*. Τα δείγματα εξετάστηκαν δύο φορές την ημέρα από περισσότερους από έναν τεχνικούς για μια περίοδο 12 ημερών, με τη χρήση 2 διαφορετικών παρτίδων κιτ. Σε κάθε μέρα εξετάστηκε ένας θετικός και ένας αρνητικός ορός ελέγχου. Όλα τα θετικά δείγματα παρέμειναν θετικά και όλα τα αρνητικά δείγματα παρέμειναν αρνητικά.

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ

Το όριο ανίχνευσης (LoD) για την εξέταση *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* προσδιορίστηκε σε συγκέντρωση 0,2 ng/mL για την προσκολλητήνη της *E. histolytica*.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

A TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ teszt gyors membrán enzim immunoassay az *Entamoeba histolytica* kvalitatív kimutatására egyszer használatos kazettában. Hasmenéss vagy dizentériás betegségektől származó emberi székletminták vizsgálatára szolgál az E. histolytica emésztőrendszeri fertőzés diagnosztizálására. A teszt eredményeit a beteg kórelőzményével együtt kell figyelembe venni.

MAGYARÁZAT

Az *Entamoeba histolytica* és az *Entamoeba dispar* bélparaziták, amelyek világszerte mintegy fél milliárd embert fertőznek meg évente (1). Azért fontos különbséget tenni a két faj között, mert az E. histolytica patogén, intesztinális amőbiázist (pl. hasmenés, dizentéria, kolitisz) és extraintesztinális amőbiázist (pl. májtályog) okoz. Az E. dispar nem okoz tünetekkel járó betegséget, és a pontatlan diagnózis szükségletlen kezelést eredményezhet. Az amőbiázis diagnosztizálására alkalmazott leggyakoribb módszer a nedves mikroszkópos meghatározás, amelynek érzékenysége és specifikitása nem megfelelő. A trofozoitok és ciszták nehezen azonosíthatók egy egyszerű székletmintából, és megfigyeléssel nehéz különbséget tenni az E. dispar és az E. histolytica között. Az *Entamoeba* spp. immunoassay-vel történő kimutatása nagyobb érzékenységgel, alternatív diagnosztizálási módszert biztosít (2). Az E. histolytica kórokozóra specifikus immunoassay-k, mint például az E. HISTOLYTICA QUIK CHEK teszt további előnye, hogy kizárólag az E. histolytica fertőzéseket azonosítja. Nagy számú minta vizsgálható meg gyorsan és objektíven, és az eljárás kevésbé munkáigényes, mint más diagnosztikai módszerek.

A TESZT ELVE

Az E. HISTOLYTICA QUIK CHEK teszt az E. histolytica kórokozóra specifikus antitesteket alkalmaz. A Membránszűrő az immobilizált antitestek két függőleges vonalával rendelkező Reakcióablakot tartalmaz. A tesztvonal („T”) az E. histolytica adhezin elleni specifikus monoklonális antitesteket tartalmazza. A kontroll vonal („C”) pedig torma-peroxidáz (HRP) szembeni antitesteket tartalmaz. A Konjugátum torma-peroxidázhoz kapcsolódik, E. histolytica elleni antitesteket tartalmaz. A teszt elvégzéséhez a mintát egy olyan csőhöz adják, amely a Hígító és a Konjugátum keverékét tartalmazza. A hígított minta-konjugátum keverékét hozzáadják a Minta Well-hez és az eszközt hagyják inkubálni 15 percig szobahőmérsékleten. Az inkubálás során a mintában lévő E. histolytica adhezin kötődik az antitest-peroxidáz konjugátumhoz. Az antigén-antitest konjugátum komplexek szűrőbetétet keresztül vándorolnak egy membránhoz, ahol a vonalakban lévő immobilizált anti-adhezin antitestek megkötik őket. A Reakcióablakot ezután kimossák a Mosópufferrel, amelyet a Szubsztrát hozzáadása követ. 10 perces inkubálási idő után a Reakcióablakot szemrevételezéssel megvizsgálják, hogy megjelenik-e egy függőleges kék vonal a Reakcióablak „C” és „T” oldalán. A Reakcióablak „T” oldalán megjelenő kék vonal pozitív eredményt jelez. A pozitív „C” reakció, amelyet a Reakcióablak „C” oldalán megjelenő függőleges kék vonal jelez, monitorozza/megerősíti, hogy a mintát és a reagenseket megfelelően adták hozzá, a reagensek az assay elvégzése idején aktívak voltak, és a minta megfelelően átvándorolt a Membránszűrőn. Továbbá megerősíti az assay-vel kapcsolatos többi reagens reaktivitását.

BIZTOSÍTOTT ANYAGOK

MEM DEV

Membránszűrők – Mindegyik tasak 1 eszközt tartalmaz

CONJ ENZ

Konjugátum (2 ml) – Torma-peroxidázhoz kapcsolt, E. histolytica elleni antitestek pufferelt fehérjeoldatban

DIL SPE

Hígító (16 ml) – Pufferelt fehérjeoldat fekete fokbeosztásos cseppentő szerelvénnel

CONTROL +

Pozitív kontroll (1 ml) – E. histolytica antigén pufferelt fehérjeoldatban

SUBS REAG

Szubsztrát (3.5 ml) – Tetrametil-benzidint tartalmazó oldat

WASH REAG

Mosópuffer (12 ml) – Pufferelt oldat fehér fokbeosztásos cseppentő szerelvénnel

Eldobható műanyag pipetták (50) – 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl és 500 µl beosztással ellátva

IVD

In Vitro diagnosztikai orvosi eszköz

SZÜKSÉGES, DE NEM MELLÉKELT ESZKÖZÖK

Kís tesztcsövek (pl. műanyag mikrocentrifugacsövek)

Fa applikátor pálcák

Eldobható kesztyűk

Pipetta és hegyek

Időzítő

FELHASZNÁLHATÓSÁGI IDŐ ÉS TÁROLÁS

A kit lejárati ideje a kit dobozában címkéjén szerepel. A kit 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten tárolandó. Használat után a lehető leghamarabb tegye vissza a kit-et a hűtőszekrénybe.

ÖVINTÉZKEDÉSEK

1. Megérkezéskor vizsgálja meg a készletet annak biztosítása érdekében, hogy a komponensek ne legyenek fagyottak vagy meleg tapintásúak a nem megfelelő szállítási körülmények miatt, és ne legyenek láthatóak szivárgás jelei.
2. Használat előtt minden komponenst hagyjon szobahőmérsékletre melegedni, így biztosítva a kit megfelelő reaktivitását.
3. A Szubsztrát reagensek szintelennek kell lenni. Ha a Szubsztrát reagens sötétkék/lila színre változik, dobja ki és a cseréhez hívja a műszaki szolgálatot.
4. A különböző készletekből származó reagenseket nem szabad összekeverni vagy felcserélni. Ne használja a készletet a lejárati dátumon túl.
5. A kupakok, hegyek és cseppentő szerelvények színdóldotk; NE keverje, és ne cserélje ki őket!
6. A székletmintákat mintavétel után 72 órán belül használja fel az optimális eredmények érdekében. A fagyasztott minták elveszthetik a reaktivitásukat a fagyasztás és felolvasztás miatt.
7. A tesztet optimalizált érzékenységre és specifikitásra vonatkozóan. A megadott eljárás és/vagy tesztfeltételek módosításai befolyásolhatják a teszt érzékenységét és specifikitását. Ne térjen el a megadott eljárástól.

HU

8. A székletminták és a használt membránszűrők potenciálisan fertőző ágenseket tartalmazhatnak és a 2. biológiai biztonsági szintnek („Biosafety Level 2”) megfelelően kezelendők a CDC/NIH „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Biológiai biztonság a mikrobiológiai és orvosi biológiai laboratóriumokban)” című kézikönyvében szereplő ajánlás szerint. A teszt végzésekor viseljen eldobható kesztyűt.
9. *In vitro* diagnosztikai alkalmazásra.

SZÉKLETMINTÁK VÉTELE, KEZELÉSE ÉS TÁROLÁSA

Elfogadható mintatípusok	Ne használjon
Friss székletminták	Formalinós fixálószerben lévő székletmintákat (pl. nátrium-acetát formalin, 10% formalin)
Fagyasztott székletminták (higítatlanul fagyasztott)	Alkoholos fixálószerben lévő székletmintákat (pl. poli(vinil-alkohol))
	Transzportközegben lévő székletmintákat (pl. Cary Blair)

- A székletmintákkal kapcsolatban alkalmazza a szabványos, házon belüli mintavételi és kezelési eljárásokat. A székletmintákat tiszta, szivárgásmentes tartályokban gyűjtse.
- A friss székletmintákat 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten maximum 72 órán át tárolja. Ha a vizsgálat nem végezhető el a gyűjtéstől számított 72 órán belül, akkor fagyassza le a mintákat és tárolja ≤ -10 °C-on. Ha lehetséges, akkor 24 órán belül vizsgálja meg a mintákat.
- Kerülni kell az ismételt lefagyasztást/felolvasztást. Fagyasztott minták használatakor olvassza fel őket szobahőmérsékleten.
- Ne tárolja a székletmintákat *Higítóban*.

TESZTELJÁRÁS

- Figyeljen az assay teljes idejére egyenlő több székletminta tesztelesekor.
- Felhasználás előtt minden reagenst és eszközt hagyjon szobahőmérsékletre melegedni. Távolítsa el a reagensket a habbetétből, hogy csökkentse a szobahőmérsékletre való melegedéshez szükséges időt.
- Állítson be és jelöljön meg címkével egy kis tesztcsövet minden mintára és opcionális külső kontrollokra vonatkozóan.**
- Mérjen be 500 µl *Higítót* mindegyik csőbe a fekete fokebeosztás cseppentő szerelvényével.**

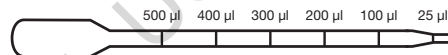
Minta típusa	Higító térfogata
Friss székletminták	500 µl
Fagyasztott székletminták (higítatlanul fagyasztott)	500 µl



HU

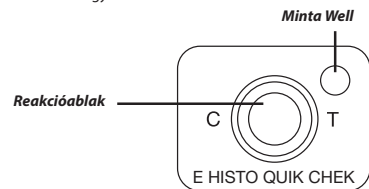
5. **Tegyen egy csepp *Konjugátumot* (piros kupakos üveg) mindegyik csőbe.** Az üveg cseppentőjét tartsa függőlegesen, így biztosítva a megfelelő cseppméretet. A *Higítót* és a *Konjugátumot* minden csőbe bele kell mérni a minták hozzáadása előtt.
6. Minden mintához külön eldobható műanyag transzferpipettát (a készlethez mellékelve) vegyen elő.

Fokbeosztásos transzferpipetta:



7. **Folyékony/Félszilárd minták** - Alaposan keverje össze a mintát. Egy transzferpipettával mérjen hozzá 25 µl mintát a csőben lévő *Higító/Konjugátum* elegyhez.
- Formázott/Szilárd minták** - A fa applikátor pálcával alaposan keverje össze a mintát, és egy kis mennyiséget (körülbelül 2 mm átmérőjű, 25 µl-rel egyenértékű mintát) adjon hozzá a *Higító/Konjugátum* elegyhez. Az applikátor pálcával emulgeálja a mintát.
- MEGJEGYZÉS:** Ha túl kevés mintát visz át, vagy nem keveri össze és nem szuszpendálja teljesen a mintát a *Higító/Konjugátum* elegyben, az hamis negatív teszt eredményt okozhat. A túl sok minta hozzáadása érvénytelen eredményeket okozhat a korlátozott mintadramálás miatt.
8. **Opcionális külső kontrollok:**
- Külső pozitív kontroll** - tegyen egy csepp Pozitív kontrollt (szürke kupakos üveg) a megfelelő tesztcsőbe.
- Külső negatív kontroll** - tegyen 25 µl *Higítót* a megfelelő tesztcsőbe.
9. Minden vizsgálandó és kontroll minta esetében zárja le a csőveket, és egy vortex keverővel vagy a cső többszöri megfordításával alaposan keverje össze. A *Higító/Konjugátum* eleggyel hígított minták és kontrollok szobahőmérsékleten maximum 2 órán át inkubálhatók a *Membránszűrőkhöz* való hozzáadás előtt.
10. Nyissa ki egy-egy, szobahőmérsékletű *Membránszűrő* tasakját minden hígított mintához és külső kontrollhoz (szükség szerint). Címkézzon fel minden eszközt megfelelően és irányítsa őket úgy egy sima felületen, hogy a nyomtatott „E HISTO QUIK CHEK” felirat az eszköz alján legyen és a kis *Minta Well* az eszköz jobb felső sarkában legyen.

Membránszűrő



11. Mielőtt hozzáadja a *Membránszűrőkhöz*, győződjön meg arról, hogy minden hígított minta alaposan össze van keverve (lásd a 9. lépést). **Egy új transzferpipettával minden csőből mérjen be 500-500 µl-t (a legfelső beosztás) egy *Membránszűrő* *Minta Well-jébe* (az eszköz jobb felső sarkában lévő kisebb lyuk).** Amikor a mintát beméri a *Minta Well-be*, ügyeljen arra, hogy a transzferpipetta hegye a *Minta Well* lyuk belsejében legyen és a *Reakcióablak* felé dőljön. Juttassa a hígított mintát a *Membránszűrő* belsejében lévő felszívó párnára.

12. **Inkubálja az eszközt szobahőmérsékleten 15 percig** – a minta felszívódik az eszközön keresztül és a nedves terület szétterjed a *Reakcióablakon*. A 15 perces inkubációs lépés aztán kezdődik, hogy az utolsó hígított minta-konjugátum keverékét átvitték az utolsó *Membráneszközbe*.
MEGJEGYZÉS AZON MINTÁKRA VONATKOZÓAN, AMELYEK MIGRÁCIÓJA SIKERTELEN:
Bizonyos esetekben a hígított minta nem migrál megfelelően, és a Reakcióablak nem lesz teljesen nedves. Ha a Reakcióablak nem tűnik teljesen nedvesnek 5 percelt azután, hogy a mintát a Minta Well-hez hozzáadták, adjon 100 µl (4 csepp) Hígítót a Sample Well-hez és várjon további 5 perccet (összesen 20 perccet). Menjen tovább a Teszteljárás következő lépésére.
13. **Inkubáció után adjon 300 µl Mosópuffert a középső Reakcióablakhoz a fokbeosztásos fehér cseppentő szerelvény alkalmazásával.** Hagyja, hogy a Mosópuffer teljesen felszívódjon.
14. **Adjon 2 csepp Szubsztrátot (fehér kupakos üveg) a középső Reakcióablakhoz.**
15. **Inkubálja szobahőmérsékleten 10 percig.** Inkubálás után szemrevételezéssel olvassa le és jegyezze fel az eredményeket.

AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE



Pozitív eredmény



Negatív eredmény



**Érvénytelen
eredmény**



**Érvénytelen
eredmény**

MEGJEGYZÉS: A külső kontrollok kizárólag a nagyobb rendszerhibák ellenőrzésére szolgálnak. Ha a pozitív és a negatív kontrollokkal nem a várt eredmények születnek, ezt azt jelezheti, hogy maguk a kontrollok nem működnek megfelelően.

- A teszt értelmezése akkor a legmegbízhatóbb, ha az eszköz egy jól megvilágított helyen, közvetlenül az eszköz fölött normál működési távolságban, azonnal leolvassák a reakcióidő végén.
- Pozitív eredmény:** Két függőleges kék vonal látható, a kontroll vonal a *Reakcióablak*, „C” (bal) oldalán, és a teszt vonal a *Reakcióablak*, „T” (jobb) oldalán. A vonalak intenzitása a halvány és a sötét között változhat – a „T” oldalon megjelenő minden vonal pozitívtnak tekintendő. Ne értelmezze a membrán elszíneződését pozitív eredményként. A pozitív eredmény az *E. histolytica* antigén jelenlétét mutatja, valamint azt, hogy megfelelően pozitív kontroll vonal látható.
- Negatív eredmény:** Egyetlen függőleges kék vonal látható a *Reakcióablak*, „C” (bal) oldalán, és nem látható teszt vonal a *Reakcióablak*, „T” oldalán. A negatív eredmény azt jelzi, hogy vagy egyáltalán nincs jelen *E. histolytica* antigén a mintában, vagy a teszt kimutatási határértéke alatt van, valamint, hogy megfelelően reaktív pozitív kontroll vonal látható.
- Érvénytelen eredmény:** Egyetlen vonal látható a *Reakcióablak*, „T” oldalán, vagy egyáltalán nem látható vonal a *Reakcióablakban*. A teszt érvénytelen, ha a tesztreakció befejeződésekor nincs jelen kontroll vonal.

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* teszt eredményeinek érvényessége a belső és külső kontrollok megfelelő reakciójától függ.

Belső: Függőleges kék kontroll vonalnak kell látszódnia a *Reakcióablak*, „C” oldalán, minden tesztelt *Membráneszközön*. Ez igazolja, hogy a mintát és a reagenseket megfelelően adták hozzá és reagáltak az assay során. Az eredmények területén lévő világos háttér belső negatív kontrollként tekintendő. A színe fehéről világoskékig terjedhet, és minden kialakult vonal tisztán látható lesz.

Külső: Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* teszt reaktivitását ellenőrizni kell átvételkor a Pozitív Kontroll és a negatív kontroll (Hígító) használatával. A Pozitív Kontroll igazolja az assay-vel kapcsolatos többi reagens reaktivitását, és nem rendeltetése, hogy biztosítsa a precizitást az analitikai assay cut-off értékénél. További tesztek végezhetők a kontrollokkal, hogy eleget tegyenek a helyi, állami és/vagy szövetségi szabályozásoknak és/vagy az akkreditáló szervezeteknek.

KORLATÓZÁSOK

- A negatív tesztteredmény nem zárja ki az *E. histolytica* adhezin jelenlétének lehetőségét a mintában, ami akkor fordulhat elő, ha az antigénszint a teszt kimutatási határa alatt van.
- Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* teszt kvalitatív. A szín intenzitása nem értelmezhető kvantitatív módon.

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A normál, egészséges személyek szervezetében nem lehet jelen az *E. histolytica*, és esetükben az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* tesztnek negatívnak kell lennie. Ha az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* teszt eredménye pozitív, az azt jelzi, hogy a személy kimutatható mennyiségben üríti az *E. histolytica* antigént. Az *E. histolytica* fertőzés incidenciája népcsoportonként és földrajzi régiókonként jelentősen változó. A becslések szerint az *Entamoeba histolytica* világszerte mintegy 50 millió embert fertőz meg (2). Ezeknek a személyeknek durván 90%-a tünetmentes marad, míg kb. 10%-nál jelentkeznek klinikai tünetek, amelyek az emésztőrendszeri betegségtől a májtályogokig terjedhetnek. Nagy kockázatú csoportok a következők: külföldre utazók, bevándorlók, legyengült immunrendszerű személyek, vendégmunkások és aktív homoszexuális férfiak (2, 3). A nempatogén törzsek (*E. dispar*) elsősorban a homoszexuális férfiak körében fordulnak elő (4). A betegséget gyakran az *E. histolytica* tünetmentes hordozói terjesztik.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* teszt teljesítményét az *E. HISTOLYTICA II* tesztrel és a Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* tesztrel hasonlították össze, PCR-rel elkülönített eltérő mintákkal. Székletminták közül 449 fagyasztott minta volt. Az életkorral kapcsolatos információk 350 beteg esetében álltak rendelkezésre. A 350 beteg közül 87% volt < 18 éves. A nemmel kapcsolatos információ 424 beteg esetében volt elérhető. A betegek közül 54% volt nő és 46% volt férfi. Az 1. táblázat az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* teszt klinikai teljesítményének összefoglalását mutatja be mindhárom vizsgálóhelyen.

1. táblázat Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* teszt, az *E. HISTOLYTICA II* teszt és a Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* teszt összehasonlító klinikai teljesítményének összefoglalása.

n = 449	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Pozitív	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Negatív
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Pozitív	94	3
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Negatív	3	349

		95%-os konfidenciaintervallum
Pozitív egyezés százalékos aránya	96,9%	90,6% - 99,2%
Negatív egyezés százalékos aránya	99,1%	97,3% - 99,8%
Teljes százalékos egyezés	98,7%	98,5% - 98,9%
*PCR-rel elkülönített – Teljes százalékos egyezés	99,6%	99,6% - 99,6%

n = 449	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Pozitív	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Negatív
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Pozitív	87	10
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Negatív	24	328

		95%-os konfidenciaintervallum
Pozitív egyezés százalékos aránya	78,4%	69,4% - 85,4%
Negatív egyezés százalékos aránya	97,0%	94,5% - 98,5%
Teljes százalékos egyezés	92,4%	91,0% - 93,6%
*PCR-rel elkülönített – Teljes százalékos egyezés	99,3%	99,2% - 99,4%

*A 40 eltérő mintát úgy különítették el, hogy a székletmintákból származó DNS-t tisztították és polimeráz láncreakcióval (PCR) elvégezték az amplifikációt az *E. histolytica*, az *E. dispar* és az *E. moshkovskii* mikroorganizmusokra.

Az *E. HISTOLYTICA II* és az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* tesztekkel kapott 6 eltérő minta esetében: Az *E. HISTOLYTICA II* tesztrel vizsgálva pozitív, az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* tesztrel vizsgálva pedig negatív 3 minta a PCR eljárással *E. histolytica* pozitív volt, ebből 2 minta *E. histolytica-ra* PCR-pozitív, 1 minta pedig *E. histolytica-ra* PCR-negatív volt. Az *E. HISTOLYTICA II* tesztrel vizsgálva negatív, az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* tesztrel vizsgálva pedig pozitív 3 minta a PCR eljárással *E. histolytica* pozitív volt.

A Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* teszt és az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* teszt közötti 34 eltérő minta esetében: A Remel™ ProSpec™ tesztrel vizsgálva pozitív, az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* tesztrel vizsgálva pedig negatív 24 minta közül, 3 az *E. histolytica-ra* PCR-pozitív, 13 az *E. dispar-ra* PCR-pozitív, 8 pedig az *Entamoeba-ra* PCR-negatív bizonyult. A Remel™ ProSpec™ tesztrel vizsgálva negatív, az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* tesztrel vizsgálva pedig pozitív 10 minta PCR eljárással *E. histolytica* pozitív volt.

REPRODUKÁLHATÓSÁG

Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* teszt reprodukálhatóságát 12 olyan székletminta alkalmazásával határozták meg, amelyeket kódoltak, hogy megakadályozzák az azonosításukat a tesztelés során. A tesztelés 2 független laboratóriumban és a TECHLAB®, Inc.-nél a helyszínen végezték el. A mintákat minden egyes vizsgálóhelyen, egy 5 napos időszakban naponta kétszer vizsgálta meg több laboráns, 2 különböző gyártási számú kit felhasználásával. Minden álcázott mintapanellet futtattak pozitív és negatív kontrollt. Mindegyik laboratórium eredményeit eljuttatták a TECHLAB®, Inc. részére, és összehasonlították azokat a belső eredményekkel. Az eredmények a különböző vizsgálóhelyek között konzisztensek voltak, és 100%-os korrelációt mutattak. A minták az esetek 100%-ában a várt eredményeket produkálták.

KERESZTREAKTIVITÁS

Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* teszt keresztreaktivitását az alább felsorolt baktérium- és vírusörzsekkel vizsgálták. Egyik törzs sem befolyásolta negatívan az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* teszt teljesítményét.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	
Adenovírus 2, 5, 40, 41	Humán adenovírus 1, 3	Humán enterovírus 69, 70, 71
Coxsackievírus B5	Humán coronavirus	Humán parechovírus 1
Echovírus 11, 18, 22, 33	Humán coxsackievírus B2, B3, B4	[Echovírus 22]
Enterovírus 68, 69	Humán echovírus 9	Humán rotavírus

Ezenkívül, az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* tesztet olyan székletmintákkal is elvégezték, amelyek mikroszkópos vizsgálattal dokumentáltan pozitívak voltak egyéb parazitákra. Nem figyelték meg keresztreaktivitást az alábbi organizmusokkal.

<i>Entamoeba coli</i>	<i>Chilomastix mesnili</i>	<i>Kampósféreg</i> peték
<i>Entamoeba dispar</i>	<i>Cyclospora</i> spp.	<i>Iodamoeba bütschlii</i>
<i>Entamoeba moshkovskii</i>	<i>Endolimax nana</i>	<i>Trichomonas hominis</i>
<i>Ascaris lumbricoides</i> peték	<i>Giardia</i> spp.	<i>Trichuris trichiura</i> peték
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Hymenolepis nana</i>	

ZAVARÓ ANYAGOK (USA-KÉSZÍTMÉNY)

A következő anyagok a jelzett koncentrációban nem voltak hatással a pozitív vagy negatív teszteredményekre:

Sertés gyomor mucin (3,5 m/v%), emberi vér (40 v/v%), hidrokortizon (40 v/v%), bárium-szulfát (5 m/v%), Imodium® (5 v/v%), Kaopectate® (5 v/v%), Pepto-Bismol® (5 v/v%), Maalox® Advanced (5 v/v%), sztearinsav (40 m/v%), palmitinsav (40 m/v%), metronidazol (0,25 m/v%), fenilefrin (40 m/v%), naproxen-nátrium (40 m/v%), nonoxinol-9 (40 v/v%), vankomicin (0,25 m/v%), Priolsec OTC® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), Tagamet® (5 µg/ml), ciprofloxacín (0,25 m/v%), Mylanta® (4,2 mg/ml) és emberi vizelet (5 v/v%).

PONTOSSÁG – ASSAY-N BELÜLI

Az assay-n belüli teljesítmény meghatározásához tizenkét emberi székletmintát vizsgáltak *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK teszttel. A tizenkét minta közül hat volt különböző mértékben (alacsony, közepes és magas) pozitív az *E. histolytica* kórokozóra, hat pedig negatív volt az *E. histolytica* kórokozóra. Minden mintát öt alkalommal vizsgáltak ugyanazon tesztfutattással, két különböző gyártási számú kit felhasználásával. Minden panellel futtattak pozitív és negatív kontrollt. Minden pozitív minta pozitív maradt, és minden negatív minta negatív maradt.

PONTOSSÁG – ASSAY-K KÖZÖTTI

Az assay-k közötti teljesítmény meghatározásához tizenkét emberi székletmintát vizsgáltak *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK teszttel. A tizenkét minta közül hat volt különböző mértékben (alacsony, közepes és magas) pozitív az *E. histolytica* kórokozóra, hat pedig negatív volt az *E. histolytica* kórokozóra. A mintákat 12 napon át, naponta kétszer, több különböző laboráns vizsgálta, 2 különböző gyártási számú kit felhasználásával. Minden nap futtattak pozitív és negatív kontrollt. Minden pozitív minta pozitív maradt, és minden negatív minta negatív maradt.

ANALITIKAI ÉRZÉKENYSÉG

Az *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK teszt kimutatási határát (Limit of Detection – LoD) 0,2 ng/ml koncentrációnak mérték, az *E. histolytica* adhezin esetében.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

USO PREVISTO

Il test TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ è un dosaggio immunoenzimatico rapido a membrana per il rilevamento qualitativo dell'adesina da *Entamoeba histolytica* in una cassetta monouso. E' concepito per l'uso con campioni fecali umani ottenuti da pazienti con diarrea o dissenteria quale ausilio nella diagnosi delle infezioni gastrointestinali da *E. histolytica*. I risultati del test devono essere valutati in associazione all'anamnesi del paziente.

SPIEGAZIONE

L'*Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar* sono parassiti intestinali che ogni anno infettano approssimativamente mezzo miliardo di persone in tutto il mondo (1). È necessario distinguere tra le due specie in quanto l'*E. histolytica* è patogeno e causa amebiasi intestinale (p.es. diarrea, dissenteria, colite) e amebiasi extra-intestinale (p.es. ascesso epatico). L'*E. dispar* non è associato a malattia sintomatica e una diagnosi non accurata può causare un trattamento non necessario. Il metodo più comune utilizzato per diagnosticare l'amebiasi è l'analisi al microscopio wet mount, che soffre di una scarsa sensibilità e specificità. I trofozoiti e le cisti non vengono identificati facilmente in un singolo campione fecale ed è difficile distinguere visivamente tra *E. dispar* e *E. histolytica* all'osservazione. Il rilevamento di specie di *Entamoeba* spp. mediante immunodosaggio offre un metodo alternativo di diagnosi con una maggiore sensibilità (2). Gli immunodosaggi specifici per l'*E. histolytica*, come il test E. HISTOLYTICA QUIK CHEK, forniscono il vantaggio aggiunto di identificare solo le infezioni da *E. histolytica*. È possibile testare in maniera rapida e obiettiva grandi numeri di campioni e la procedura richiede meno lavoro della maggior parte degli altri metodi di diagnosi.

PRINCIPI DEL TEST

Il test E. HISTOLYTICA QUIK CHEK utilizza anticorpi specifici per l'*E. histolytica*. Il *Dispositivo a membrana* contiene una *Finestra di reazione* con due linee verticali di anticorpi immobilizzati. La riga di test ("T") contiene anticorpi monoclonali specifici per l'adesina da *E. histolytica*. La riga di controllo ("C") contiene anticorpi alla perossidasi di rafano (HRP). Il *Coniugato* è costituito da anticorpi a *E. histolytica* associati a perossidasi di rafano. Per eseguire il test, il campione viene dispensato in una provetta contenente una miscela di *Diluyente* e *Coniugato*. La miscela di campione diluito e coniugato viene dispensata nel *Pozzetto del Diluyente* e il dispositivo viene lasciato ad incubare a temperatura ambiente per 15 minuti. Durante l'incubazione, qualsiasi adesina da *E. histolytica* nel campione si lega al coniugato anticorpo-perossidasi. I complessi antigene-anticorpo-perossidasi migrano attraverso un tampone filtrante su una membrana in cui vengono catturati dagli anticorpi anti-adesina immobilizzati nella riga. La *Finestra di reazione* viene quindi risciacquata con *Tampone di lavaggio* a cui segue l'aggiunta di *Substrato*. Dopo un periodo di incubazione di 10 minuti, la *Finestra di reazione* viene esaminata visivamente per rilevare la comparsa delle righe blu verticali sui lati "C" e "T" della *Finestra di reazione*. Una riga blu sul lato "T" della *Finestra di reazione* indica un risultato positivo. Una reazione "C" positiva, indicata da una riga blu verticale sul lato "C" della *Finestra di reazione*, monitora/conferma che il campione e i reagenti sono stati dispensati correttamente, i reagenti erano attivi al momento dell'esecuzione del test e che il campione è migrato correttamente attraverso il *Dispositivo a membrana*. Inoltre conferma la reattività degli altri reagenti associati al dosaggio.

MATERIALI FORNITI

MEM DEV	Dispositivi a membrana – Ogni busta contiene 1 dispositivo
CONJ ENZ	Coniugato (2 ml) – Anticorpo specifico per <i>E. histolytica</i> associato a perossidasi di rafano in una soluzione proteica tamponata
DIL SPE	Diluyente (16 ml per flacone) – Soluzione proteica tamponata con contagocce graduato nero
CONTROL +	Controllo positivo (1 ml) – Antigene di <i>E. histolytica</i> in una soluzione proteica tamponata
SUBS REAG	Substrato (3,5 ml) – Soluzione contenente tetrametilbenzidina
WASH REAG	Tampone di lavaggio (12 ml) – Soluzione tamponata con contagocce graduato bianco
Pipette in plastica monouso (50) – Graduate a 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl e 500 µl	
IND	Dispositivo medico per test diagnostici <i>In Vitro</i>

MATERIALI E APPARECCHIATURE RICHIESTI MA NON FORNITI

Provette piccole (p.es. provette per microcentrifuga in plastica) Stick applicatori in legno
Guanti monouso Pipettatore e puntali Timer

VITA UTILE E CONSERVAZIONE A MAGAZZINO

La data di scadenza del kit è stampata sull'etichetta della scatola del kit. Conservare il kit tra 2°C e 8°C. Riporre il kit in frigorifero non appena possibile dopo l'uso.

PRECAUZIONI

- All'arrivo, controllare il kit per assicurarsi che i componenti non siano né congelati né caldi al tatto a causa di condizioni di spedizione inadeguate e che non vi siano segni di perdita.
- Portare tutti i componenti a temperatura ambiente prima dell'uso per garantire una reattività adeguata del kit.
- Il reagente *Substrato* deve essere incolore. Se il reagente *Substrato* assume un colore blu scuro/viola, smaltirlo e contattare il Servizio tecnico e chiedere la sostituzione.
- Non miscelare e scambiare reagenti di kit diversi. Non utilizzare un kit dopo la data di scadenza.
- I cappucci, i puntali e i contagocce seguono un codice colore; NON mischiarli o scambiarli!
- Per ottenere i risultati ottimali, utilizzare i campioni fecali entro 72 ore dalla raccolta. I campioni congelati possono perdere reattività in seguito al congelamento e allo scongelamento.
- Il test è stato ottimizzato per quanto concerne la sensibilità e la specificità. Eventuali alterazioni della procedura specificata e/o delle condizioni di test possono influenzare la sensibilità e la specificità del test. Non deviare dalla procedura specificata.

- I campioni fecali e i dispositivi a membrana usati possono contenere agenti potenzialmente infettivi e devono essere maneggiati al "Livello di biosicurezza 2" come raccomandato nel manuale del CDC/NIH "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories." Durante il test, indossare guanti monouso.
- Per uso diagnostico *in vitro*.

RACCOLTA, TRATTAMENTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI FECALI

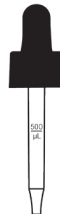
Tipi di campioni accettabili	Non usare
Campioni fecali freschi	Campioni fecali in fissativo a base di formalina (p.es. formalina di sodio acetato, formalina al 10%)
Campioni fecali congelati (congelati non diluiti)	Campioni fecali in fissativo a base di alcol (p. es. alcol polivinilico)
	Campioni fecali in mezzi di trasporto (p.es. Cary Blair)

- Utilizzare le procedure di raccolta e trattamento interne standard per i campioni fecali. Raccogliere i campioni fecali in contenitori puliti, a prova di perdita.
- Conservare i campioni fecali freschi tra 2°C e 8°C per un massimo di 72 ore. Congelare i campioni e conservarli a ≤ -10°C se l'analisi non può essere eseguita entro 72 ore dalla raccolta. Testare i campioni che hanno meno di 24 ore, ogniqualvolta possibile.
- Evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento. Se si utilizzano campioni scongelati, lasciarli scongelare a temperatura ambiente.
- Non conservare i campioni fecali nel *Diluyente*.

PROCEDURA DEL TEST

- Prestare attenzione al tempo totale di dosaggio quando si analizza più di un campione fecale.
- Prima dell'utilizzo portare tutti i reagenti a temperatura ambiente. Rimuovere i reagenti dall'inserto in espanso per ridurre il tempo necessario per il riscaldamento a temperatura ambiente.
- Preparare ed etichettare una provetta piccola per ogni campione e i controlli esterni opzionali.**
- Dispensare 500 µl di *Diluyente* in ogni provetta utilizzando il contagocce graduato nero.**

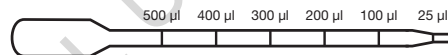
Tipo di campione	Volume di <i>diluyente</i>
Campioni fecali freschi	500 µl
Campioni fecali congelati (congelati non diluiti)	500 µl



IT

- Dispensare una goccia di *Coniugato* (flacone con tappo rosso) in ogni provetta.** Tenere il flacone contagocce in posizione verticale per garantire gocce di dimensioni corrette. Il *Diluyente* e il *Coniugato* devono essere dispensati in tutte le provette prima di aggiungere i campioni.
- Procurarsi una pipetta di trasferimento in plastica monouso (fornita in insieme al kit) per ogni campione.

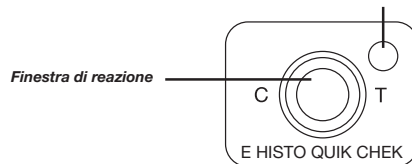
Pipetta di trasferimento graduata:



- Per i campioni liquidi/semi-solidi** - Miscelare accuratamente. Utilizzando la pipetta di trasferimento, dispensare 25 µl di campione nella miscela di *Diluyente/Coniugato* contenuta nella provetta.
Per i campioni formati/solidi - Miscelare accuratamente il campione utilizzando uno stick in legno e trasferire una piccola porzione (circa 2 mm di diametro, l'equivalente di 25 µl) del campione nella miscela di *Diluyente/Coniugato*. Emulsionare i campioni utilizzando lo stick.
NOTA: il trasferimento di una quantità insufficiente di campione o la mancata miscelazione e sospensione completa del campione nella miscela di Diluyente/Coniugato possono dare un risultato falsamente negativo. La dispensazione di una quantità eccessiva di campione può causare risultati non validi a causa del flusso di campione limitato.
- Controlli esterni opzionali:**
Controllo positivo esterno - aggiungere una goccia di *Controllo positivo* (flacone con tappo grigio) alla provetta appropriata.
Controllo negativo esterno - aggiungere 25 µl di *Diluyente* alla provetta appropriata.
- Per tutti i campioni di test e controllo, chiudere le provette, miscelare accuratamente con un vortizzatore o capovolgendo le provette più volte. I campioni o i controlli diluiti nella miscela di *Diluyente/Coniugato* possono essere incubati a temperatura ambiente per un massimo di 2 ore prima di essere aggiunti al *Dispositivo a membrana*.
- Aprire una busta di *Dispositivo a membrana* a temperatura ambiente per ogni campione diluito e controllo esterno (in base alla necessità). Etichettare ogni dispositivo in modo appropriato e orientarlo su una superficie piana in modo che la scritta "E HISTO QUIK CHEK" si trovi sul fondo del dispositivo e il *Piccolo pozzetto* per il campione si trovi nell'angolo in alto a destra del dispositivo.

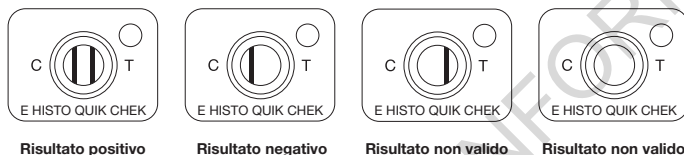
Dispositivo a membrana

Pozzetto del campione



- Assicurarsi che ogni campione diluito venga accuratamente miscelato (vedere passaggio 9) prima di aggiungerlo al *Dispositivo a membrana*. Utilizzando una pipetta di trasferimento nuova, trasferire 500 µl (graduazione massima) da ogni provetta nel **Pozzetto per campioni** (foro più piccolo nell'angolo in alto a destra del dispositivo) di un *Dispositivo a membrana*. Durante l'erogazione del campione nel pozzetto, assicurarsi che il puntale della pipetta di trasferimento si trovi all'interno del foro del pozzetto e sia angolato verso la *Finestra di reazione*. Espellere il campione diluito sul tampone di drenaggio all'interno del *Dispositivo a membrana*.
- Incubare il dispositivo a temperatura ambiente per 15 minuti** – il campione drainerà attraverso il dispositivo e un'area umida si diffonderà attraverso la *Finestra di reazione*. La fase di incubazione di 15 minuti comincia dopo che l'ultima miscela di campione diluito-coniugato è stata trasferita nel *Dispositivo a membrana* finale.
NOTA PER I CAMPIONI CHE NON MIGRANO:
Può accadere che un campione diluito non migri correttamente e che la *Finestra di reazione* non si inumidisca completamente. Se la *Finestra di reazione* non sembra essere completamente umida entro 5 minuti dalla dispensazione del campione nel **Pozzetto del campione**, dispensare 100 µl (4 gocce) di diluente nel Pozzetto del campione e attendere altri 5 minuti (per un totale di 20 minuti). Proseguire con il passaggio successivo della procedura di test.
- Dopo l'incubazione, aggiungere 300 µl di Tampone di lavaggio alla Finestra di reazione utilizzando il contagocce bianco graduato.** Consentire al Tampone di lavaggio di essere completamente assorbito.
- Dispensare 2 gocce di Substrato (flacone con il tappo bianco) nella Finestra di reazione centrale.**
- Incubare per 10 minuti a temperatura ambiente. Leggere e registrare visivamente i risultati dopo l'incubazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI



NOTA: I controlli esterni hanno esclusivamente lo scopo di monitorare errori sistematici grossolani. Se con i controlli positivo e negativo non si osservano i risultati attesi, è possibile che i controlli non stiano funzionando correttamente.

- L'interpretazione del test è massimamente affidabile quando il dispositivo viene letto immediatamente alla fine della reazione, in un'area ben illuminata, e direttamente da sopra il dispositivo a una distanza di lavoro normale.
- Risultato positivo:** sono visibili due righe verticali blu, la riga di controllo sul lato "C" (sinistra) della *Finestra di reazione* e la riga di test sul lato "T" (destra) della *Finestra di reazione*. Le righe possono avere un'intensità da debole a scura - qualsiasi riga sul lato "T" viene considerata positiva. Non interpretare un'alterazione di colore della membrana come un risultato positivo. Un risultato positivo indica la presenza di antigene di *E. histolytica* e la presenza di una riga di controllo correttamente reattiva.

- Risultato negativo:** è visibile una singola riga blu verticale sul lato "C" (sinistra) della *Finestra di reazione* e non è visibile alcuna riga di test sul lato "T" della *Finestra di reazione*. Un risultato negativo indica che l'antigene di *E. histolytica* è assente nel campione oppure è inferiore al limite di rilevazione del test e che esiste una riga di controllo positiva correttamente reattiva.
- Risultato non valido:** è visibile una singola riga sul lato "T" della *Finestra di reazione* oppure non sono visibili righe nella *Finestra di reazione*. Il test non è valido se la riga di controllo non è presente al completamento della reazione del test.

CONTROLLO DI QUALITÀ

La validità dei risultati del test utilizzando il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* dipende dalla corretta reazione dei controlli interni ed esterni.

Interno: deve essere visibile una riga di controllo blu verticale sul lato "C" della *Finestra di reazione* di ogni *Dispositivo a membrana* sottoposto a test. Questo conferma che il campione e i reagenti sono stati aggiunti e hanno reagito correttamente nel test. Uno sfondo chiaro nell'area dei risultati viene considerato come un controllo negativo interno. Può avere un colore da bianco ad azzurro e qualsiasi riga formatasi sarà chiaramente visibile.

Esterno: la reattività del kit *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* deve essere verificata al ricevimento mediante il *Controllo positivo* e il controllo negativo (*Diluente*). Il *Controllo positivo* conferma la reattività degli altri reagenti associati al dosaggio e non è concepito per garantire la precisione sul valore di cut-off del dosaggio analitico. È possibile eseguire altri test con controlli per soddisfare i requisiti delle disposizioni locali, statali e/o federali e/o delle organizzazioni accreditanti.

LIMITI

- Un risultato negativo non preclude la possibile presenza di adesina da *E. histolytica* nei campioni che può esistere se il livello di antigene è inferiore al limite di rilevazione del test.
- Il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* è qualitativo. L'intensità del colore non deve essere interpretata in modo quantitativo.

VALORI ATTESI

I normali soggetti sani non devono essere infettati da *E. histolytica* e devono risultare negativi al test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Un risultato positivo al test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* indica che la persona sta eliminando quantità rilevabili di antigene di *E. histolytica*. L'incidenza di infezione da *E. histolytica* varia significativamente tra le popolazioni e le regioni geografiche. Si stima che l'*Entamoeba histolytica* infetti circa 50 milioni di persone in tutto il mondo (2). Circa il 90% di queste persone si conservano asintomatiche, mentre circa il 10% sviluppano sintomi clinici variabili da malattia gastrointestinale ad ascessi epatici. I gruppi ad alto rischio includono persone che hanno viaggiato all'estero, immigranti, soggetti immunocompromessi, lavoratori migranti e omosessuali maschi sessualmente attivi (2, 3). Tra gli omosessuali maschi sono predominanti i ceppi non patogeni (*E. dispar*) (4). La malattia viene spesso trasmessa da portatori asintomatici di *E. histolytica*.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE

Le prestazioni del test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* sono state confrontate con il test *E. HISTOLYTICA II* e Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* e i campioni discrepanti sono stati risolti tramite PCR. I campioni fecali includevano 449 campioni congelati. Informazioni sull'età erano disponibili per 350 pazienti. Dei 350 pazienti, l'87% avevano un'età < 18 anni. Informazioni sul sesso erano disponibili per 424 pazienti dove il 46% erano uomini e il 54% donne. La tabella 1 mostra un riepilogo delle prestazioni cliniche del test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* presso tutti e tre i siti.

Tabella 1. Riepilogo delle prestazioni cliniche del confronto tra il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*, il test *E. HISTOLYTICA II* e il test Remel™ ProSpecT™ *Entamoeba histolytica*.

n = 449	<i>E. HISTOLYTICA II</i> positivo	<i>E. HISTOLYTICA II</i> negativo
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> positivo	94	3
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> negativo	3	349

		Intervallo di confidenza 95%
Percentuale di accordo positivi	96,9%	90,6% - 99,2%
Percentuale di accordo negativi	99,1%	97,3% - 99,8%
Percentuale di accordo complessiva	98,7%	98,5% - 98,9%
*Risolto mediante PCR – Percentuale di accordo complessiva	99,6%	99,6% - 99,6%

n = 449	ProSpecT™ <i>E. histolytica</i> positivo	ProSpecT™ <i>E. histolytica</i> negativo
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> positivo	87	10
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> negativo	24	328

		Intervallo di confidenza 95%
Percentuale di accordo positivi	78,4%	69,4% - 85,4%
Percentuale di accordo negativi	97,0%	94,5% - 98,5%
Percentuale di accordo complessiva	92,4%	91,0% - 93,6%
*Risolto mediante PCR – Percentuale di accordo complessiva	99,3%	99,2% - 99,4%

*I 40 campioni discrepanti sono stati risolti mediante purificazione del DNA ottenuto dai campioni fecali e metodo di amplificazione della reazione a catena della polimerasi (PCR) per *E. histolytica*, *E. dispar* e *E. moshkovskii*.

Per i 6 campioni discrepanti tra *E. HISTOLYTICA II* e *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: i 3 campioni positivi mediante test *E. HISTOLYTICA II* e negativi mediante test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* includevano 2 campioni PCR-positivi a *E. histolytica* e un campione PCR negativo a *E. histolytica*. I 3 campioni negativi mediante test *E. HISTOLYTICA II* e positivi mediante test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* sono risultati PCR-positivi a *E. histolytica*.

Per i 34 campioni discrepanti tra il test Remel™ ProSpecT™ *Entamoeba histolytica* e il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: i 24 campioni positivi tramite test Remel™ ProSpecT™ e negativi tramite test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* includevano 3 campioni PCR-positivi a *E. histolytica*, 13 PCR-positivi a *E. dispar* e 8 PCR-negativi a *Entamoeba*. I 10 campioni negativi mediante test Remel™ ProSpecT™ e positivi mediante test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* erano PCR-positivi a *E. histolytica*.

RIPRODUCIBILITÀ

La riproducibilità del test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* è stata determinata utilizzando 12 campioni fecali che sono stati codificati per prevenirne l'identificazione durante il test. Il test è stato eseguito presso 2 laboratori indipendenti e sul posto presso TECHLAB®, Inc. I campioni sono stati testati due volte al giorno per un periodo di 5 giorni da più tecnici presso ciascun sito utilizzando 2 lotti diversi del kit. Per ogni panel di campioni mascherati è stato eseguito un controllo positivo e un controllo negativo. I risultati da ogni laboratorio sono stati inviati a TECHLAB®, Inc. e confrontati con i risultati ottenuti internamente. I risultati sono apparsi coerenti tra le diverse ubicazioni e hanno evidenziato una correlazione del 100%. I campioni hanno prodotto i risultati attesi al 100% delle volte.

CROSS-REATTIVITÀ

Il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* è stato sottoposto ad analisi di cross-reattività con i ceppi batterici e virali sotto indicati. Nessuno dei ceppi ha interferito con le prestazioni del test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	
Adenovirus, 2, 5, 40, 41	Human Adenovirus 1, 3	Human Enterovirus 69, 70, 71
Coxsackievirus B5	Human Coronavirus	Human parechovirus 1
Echovirus 11, 18, 22, 33	Human Coxsackievirus B2, B3, B4	[Echovirus 22]
Enterovirus 68, 69	Human Echovirus 9	Human Rotavirus

Inoltre il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* è stato eseguito su campioni fecali documentatamente positivi ad altri parassiti mediante analisi al microscopio. Non è stata osservata cross-reattività con i seguenti organismi.

<i>Entamoeba coli</i>	<i>Chilomastix mesnili</i>	Hookworm, uova
<i>Entamoeba dispar</i>	<i>Cyclospora</i> spp.	<i>Iodamoeba bütschlii</i>
<i>Entamoeba moshkovskii</i>	<i>Endolimax nana</i>	<i>Trichomonas hominis</i>
<i>Ascaris lumbricoides</i> , uova	<i>Giardia</i> spp.	<i>Trichuris trichiura</i> , uova
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Hymenolepis nana</i>	

SOSTANZE INTERFERENTI (FORMULAZIONE USA)

Le seguenti sostanze non hanno dimostrato alcun effetto sui risultati positivi o negativi del test analizzati alle concentrazioni indicate: mucina gastrica di maiale (3,5% p/v), sangue umano (40% v/v), idrocortisone (40% v/v), solfato di bario (5% p/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Maalox® Advanced (5% v/v), acido stearico (40% p/v), acido palmitico (40% p/v), metronidazolo (0,25% p/v), fenilefrina (40% p/v), naprossene sodico (40% p/v), nonoxinolo-9 (40% v/v), vancomicina (0,25% p/v), Priolsec OTC® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), Tagamet® (5 µg/ml), ciprofloxacina (0,25% p/v), Mylanta® (4,2 mg/ml) e urina umana (5% v/v).

PRECISIONE INTRATEST

Per la determinazione delle prestazioni intratest, dodici campioni fecali umani sono stati analizzati utilizzando il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Di questi dodici campioni, sei sono risultati positivi a *E. histolytica* di vario livello (basso, moderato e alto) e sei sono risultati negativi a *E. histolytica*. Ogni campione è stato testato cinque volte nell'ambito della stessa esecuzione, utilizzando due lotti di kit diversi. Per ogni panel è stato eseguito un controllo positivo e un controllo negativo. Tutti i campioni positivi si sono conservati positivi e tutti i campioni negativi sono rimasti negativi.

PRECISIONE INTERTEST

Per la determinazione delle prestazioni intertest, dodici campioni fecali umani sono stati analizzati utilizzando il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Di questi dodici campioni, sei sono risultati positivi a *E. histolytica* di vario livello (basso, moderato e alto) e sei sono risultati negativi a *E. histolytica*. I campioni sono stati testati due volte al giorno da più tecnici per un periodo di 12 giorni utilizzando 2 lotti di kit diversi. Ogni giorno è stato eseguito un controllo positivo e un controllo negativo. Tutti i campioni positivi si sono conservati positivi e tutti i campioni negativi sono rimasti negativi.

SENSIBILITÀ ANALITICA

Il limite di rivelazione (LoD) per il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* è stato definito a una concentrazione di 0,2 ng/ml di adesina di *E. histolytica*.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

BOEOGD GEBRUIK

De TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™-test is een snelle membraanenzymimmunotest voor de kwalitatieve detectie van adhesie van *Entamoeba histolytica* in een cassette voor eenmalig gebruik. Deze is bedoeld voor gebruik met menselijke fecale monsters van patiënten met diarree of dysenterie als een hulpmiddel bij de diagnose van een maagdarminfectie met *E. histolytica*. De onderzoeksresultaten moeten worden beschouwd in samenhang met de voorgeschiedenis van de patiënt.

UITLEG

Entamoeba histolytica en *Entamoeba dispar* zijn darmparasieten die wereldwijd elk jaar (1) ongeveer een half miljard mensen infecteren. Het is noodzakelijk onderscheid te maken tussen de twee soorten omdat *E. histolytica* pathogeen is, en amoebiasis intestinalis (bijv. diarree, dysenterie, colitis) en amoebiasis extraintestinalis (bijv. leverabces) veroorzaakt. *E. dispar* wordt niet in verband gebracht met symptomatische ziekte en een onjuiste diagnose kan leiden tot een onnodige behandeling. De meest gebruikte methode om amoebiasis te diagnosticeren was nat geprepareerde microscopie, die leidt aan een slechte gevoeligheid en specificiteit. Trofozoieten en cysten worden niet gemakkelijk geïdentificeerd in een enkel fecaal monster en het is moeilijk om visueel onderscheid te maken tussen *E. dispar* en *E. histolytica* wanneer zij worden waargenomen. Detectie van *Entamoeba* spp. door een immunotest biedt een alternatieve diagnosemethode met een grotere gevoeligheid (2). Immunotesten specifiek voor *E. histolytica*, zoals de E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™-test, geven het extra voordeel dat ze alleen *E. histolytica*-infecties identificeren. Er kunnen snel en objectief grote aantallen monsters worden getest, en de procedure is minder arbeidsintensief dan de meeste andere diagnosemethoden.

PRINCIPE VAN DE TEST

De E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™-test gebruikt antilichamen specifiek voor *E. histolytica*. Het Membraaninstrument bevat een Reactievenster met twee verticale lijnen geïmmobiliseerde antilichamen. De testlijn ("T") bevat monoklonale antilichamen specifiek voor *E. histolytica*-adhesine. De controlelijn ("C") bevat antilichamen voor mierikswortelperoxidase (HRP). Het Conjugaat bestaat uit antilichamen van *E. histolytica* gekoppeld aan mierikswortelperoxidase. Om de test uit te voeren, wordt het monster toegevoegd aan een buis die een mengsel van Verdunner en Conjugaat bevat. Het verdunde monster-conjugaatmengsel wordt aangebracht in het Monsterputje en het instrument wordt 15 minuten op kamertemperatuur geïncubeerd. Tijdens de incubatie bindt de eventuele *E. histolytica*-adhesine in het monster aan het antilichaam-peroxidaseconjugaat. De antigeen-antilichaamperoxidasecomplexen migreren door een filterpad naar een membraan waar zij worden ingevangen door de geïmmobiliseerde anti-adhesine-antilichamen in de lijn. Het Reactievenster wordt vervolgens gewassen met Wasbuffer, gevolgd door toevoeging van Substraat. Na een incubatieperiode van 10 minuten wordt het Reactievenster visueel onderzocht op de verschijning van verticale blauwe lijnen aan de "C"- en "T"-zijden van het Reactievenster. Een blauwe lijn aan de "T"-zijde van het Reactievenster duidt op een positief resultaat. Een positieve "C"-reactie, aangegeven door een verticale blauwe lijn aan de "C"-zijde van het Reactievenster, controleert/bevestigt dat het monster en de reagentia correct werden toegevoegd, de reagentia actief waren op het tijdstip dat de test werd uitgevoerd, en dat het monster goed door het Membraaninstrument migreerde. Deze bevestigt ook de reactiviteit van de andere reagentia die verband hielden met de test.

VERSTREKTE MATERIELEN

MEM DEV

Membraaninstrumenten – Elk zakje bevat 1 instrument

CONJ ENZ

Conjugaat (2 ml) – Antilichaam specifiek voor *E. histolytica* gekoppeld aan mierikswortelperoxidase in een gebufferde eiwitoplossing

DIL SPE

Verdunner (16 ml) – Gebufferde eiwitoplossing met zwart geïnduceerde druppelaarconstructie

CONTROL +

Positieve controle (1 ml) – *E. histolytica*-antigeen in een gebufferde eiwitoplossing

SUBS REAG

Substraat (3,5 ml) – Oplossing die tetramethylbenzidine bevat

WASH REAG

Wasbuffer (12 ml) – Gebufferde oplossing met wit geïnduceerde druppelaarconstructie

Plastic wegwerppipetten (50) – Geïnduceerd op 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL, en 500 µL

IVD

In vitro diagnostisch medisch apparaat

VEREISTE, MAAR NIET MEEGELEVERDE MATERIELEN EN UITRUSTING

Kleine testbuisjes (bijv. plastic microcentrifugebuisjes)

Houten applicatorsticks

Wegwerphandschoenen

Pipetten en tips

Timer

HOUDBAARHEIDSPERIODE EN OPSLAG

De vervaldatum van de kit staat op het etiket van de doos van de kit. Bewaar de kit tussen 2 °C en 8 °C. Leg de kit zo spoedig mogelijk na het gebruik terug in de koelkast.

VOORZORGSMAATREGELEN

1. Inspecteer de kit bij aankomst, om u ervan te verzekeren dat de componenten bij aanraking niet bevroren of warm zijn door onjuiste verzendcondities, en dat er geen tekenen zijn van lekkage.
2. Breng alle componenten voor het gebruik op kamertemperatuur om de juiste reactiviteit van de kit te verzekeren.
3. Het Substraat-reagens moet kleurloos zijn. Als het Substraat-reagens verandert in een donkerblauwe/violetten kleur, gooi u het weg en belt u de technische dienst voor een vervanging.
4. Reagentia uit verschillende kits mogen niet worden gemengd of vervuild. Als de vervaldatum van een kit verstreken is, mag u deze kit niet meer gebruiken.
5. Doppen, tips en druppelaarconstructies zijn kleurgecodeerd; NIET mengen of onderling verwisselen!
6. Gebruik voor de beste resultaten de fecale specimens binnen 72 uur nadat ze zijn verzameld. Specimens die zijn bevroren kunnen door bevriezen en ontdooien hun reactiviteit verliezen.
7. De test werd geoptimaliseerd op gevoeligheid en specificiteit. Veranderingen van de gespecificeerde procedure en/of testcondities kunnen de gevoeligheid en specificiteit van de test beïnvloeden. Wijk niet af van de aangegeven procedure.

- Fecale monsters en gebruikte membraaninstrumenten kunnen potentieel infectieuze agentia bevatten en moeten worden gehanteerd op "bioveiligheidsniveau 2" zoals aanbevolen in de CDC/NIH-handleiding "Biologische veiligheid in microbiologische en biomedische laboratoria." Draag wegwerphandschoenen wanneer u de test uitvoert.
- Voor *in vitro* diagnostisch gebruik.

VERZAMELING, HANTERING EN OPSLAG VAN FECALE MONSTERS

Aanvaardbare monstertypen	Niet gebruiken
Verse fecale monsters	Fecale monsters in op formaline gebaseerd fixeermiddel (bijv. natriumacetaat-formaline, 10% formaline)
Bevroren fecale monsters (onverdund bevroren)	Fecale monsters in op alcohol gebaseerd fixeermiddel (bijv. polyvinylalcohol)
	Fecale monsters in transportmedia (bijv. Cary Blair)

- Gebruik standaard bedrijfsverzamelings- en hanteringsprocedures voor fecale monsters. Verzamel fecale monsters in schone, lekvrije bakjes.
- Bewaar verse fecale monsters tot 72 uur tussen 2 °C en 8 °C. Bevroren monsters en bewaar ze ≤ -10 °C als de test niet binnen 72 uur na verzameling kan worden uitgevoerd. Test monsters die minder dan 24 uur oud zijn, wanneer dat mogelijk is.
- Cycli van herhaaldelijke invriezen/ontdooien moeten worden vermeden. Bevroren monsters dienen voor gebruik op kamertemperatuur ontdooid te worden.
- Bewaar fecale monsters niet in de *Verdunner*.

TESTPROCEDURE

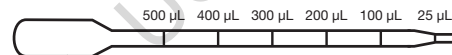
- Let op de totale testperiode wanneer u meer dan een fecaal monster test.
- Breng alle reagentia en hulpmiddelen voor het gebruik op kamertemperatuur. Verwijder de reagentia uit het schuimleggedeelte om de tijd die nodig is om tot kamertemperatuur op te warmen te verkorten.
- Stel voor elk monster en elke optionele externe controle een kleine testbuis op en label deze.**
- Voeg 500 µL *Verdunner* toe aan elke buis met behulp van de zwart gegradueerde druppelaarconstructie.**

Monstertype	Volume <i>verdunner</i>
Verse fecale monsters	500 µL
Bevroren fecale monsters (onverdund bevroren)	500 µL



- Voeg een druppel *Conjugaat* (fles met de rode dop) aan elke buis toe.** Houd de druppelaarfles verticaal om de juiste druppelgrootte te verzekeren. De *Verdunner* en het *Conjugaat* moeten aan alle buisjes worden toegevoegd voordat de monsters worden toegevoegd.
- Neem een plastic wegwerpoverbrengpipet (meegeleverd met de kit) voor elk monster.

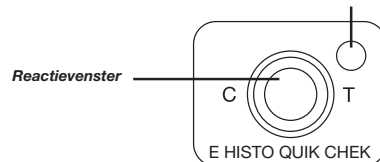
Gegradueerde overbrengpipet:



- Voor vloeibare/halfvaste monsters** - Meng het monster grondig. Gebruik een overbrengpipet, voeg 25 µL monster toe aan het *Verdunner/Conjugaat*-mengsel in het buisje.
Voor voorgevormde/vaste specimens - Meng het monster grondig met behulp van een houten applicatorstick en breng een klein gedeelte (ongeveer 2 mm diameter, het equivalent van 25 µL) van het monster over in het *Verdunner/Conjugaat*-mengsel. Emulsificeer het monster met behulp van de applicatorstick.
OPMERKING: Als er een te klein monster wordt overgebracht, of als het monster niet gemengd en volledig gesuspenderd is in het Verdunner/Conjugaat-mengsel, kan dit leiden tot een valsnegatief testresultaat. Toevoeging van te veel monster kan leiden tot ongeldige resultaten vanwege een beperkte doorstroming.
- Optionele externe controles:**
Externe positieve controle - doe een druppel *Positieve controle* (fles met grijze dop) in de juiste testbuis.
Externe negatieve controle - doe 25 µL *Verdunner* in de juiste testbuis.
- Voor alle test- en controlemonsters, sluit de buisjes en meng ze grondig met behulp van een vortexmixer of door het buisje verscheidene keren om te keren. Monsters of controles verdund in het *Verdunner/Conjugaat*-mengsel kunnen tot 2 uur worden geïncubeerd op kamertemperatuur voordat ze in het *Membraaninstrument* worden aangebracht.
- Open een *Membraaninstrument*-zakje dat op kamertemperatuur is gebracht voor elk verdund monster en elke externe controle (voor zover nodig). Etiketteer elk instrument op de juiste wijze en zet dit zo op een vlak oppervlak dat de opdruk "E HISTO QUIK CHEK" aan de onderkant van het instrument zit, en het *Monsterputje* zich in de rechterbovenhoek van het instrument bevindt.

Membraaninstrument

Monsterputje



11. Zorg ervoor dat elk verdund monster grondig wordt gemengd (zie stap 9) voordat dit in het *Membraaninstrument* wordt aangebracht. **Gebruik een nieuwe overbrengpipet, breng 500 µL (bovenste graduatie) uit elk buisje over in het Monsterputje (kleinere opening in de rechterbovenhoek van het instrument) van een *Membraaninstrument*.** Als u het monster in het *monsterputje* aanbrengt, dient u zich ervan te overtuigen dat de punt van de overbrengpipet in het gat van het *monsterputje* en in een hoek ten opzichte van het *reactievenster* staat. Laat het verdunde monster eruit lopen op het absorberende kussentje in het *Membraaninstrument*.
12. **Incubeer het instrument gedurende 15 minuten bij kamertemperatuur** – het monster zal door het instrument kruipen waarbij zich een nat gebied over het *Reactievenster* verspreidt. De 15-minutenincubatiestap begint nadat het laatste verdunde monsterconjugaatmengsel is overgebracht naar het laatste *Membraaninstrument*.
LET OP MONSTERS DIE NIET KUNNEN MIGREREN:
Zo nu en dan zal een verdund monster niet goed migreren en wordt het Reactievenster niet volledig nat. Als het Reactievenster niet binnen 5 minuten nadat het monster op het Monsterputje is aangebracht volkomen nat lijkt, voeg dan 100 µL (4 druppels) Verdunner toe aan het Monsterputje en wacht nog eens 5 minuten (van in totaal 20 minuten). Ga verder met de volgende stap van de Testprocedure.
13. **Na de incubatie, voegt u 300 µL Wasbuffer toe aan het centrale Reactievenster, gebruik daarbij de gegradueerde witte druppelaarconstructie.**
14. **Voeg 2 druppels Substraat toe (fles met witte dop) aan het centrale Reactievenster.**
15. Incubeer 10 minuten op kamertemperatuur. Lees de visuele resultaten af en registreer ze na de incubatie.

INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN



Positief resultaat



Negatief resultaat



Ongeldig resultaat



Ongeldig resultaat

OPMERKING: De externe controles zijn alleen bedoeld om te waken tegen grove systematische fouten. Als de verwachte resultaten niet met de positieve en negatieve controles worden waargenomen, zou dit erop kunnen duiden dat de controles zelf niet correct werken.

1. De interpretatie van de test is het betrouwbaarste wanneer het instrument onmiddellijk aan het eind van de reactie wordt afgelezen, in een goed verlichte ruimte, en op een normale werkafstand direct boven het instrument.
2. **Positief resultaat:** Er zijn twee verticale blauwe lijnen zichtbaar, de controlelijn aan de “C” (links)-zijde van het *Reactievenster* en de testlijn aan de “T” (rechter)-zijde van het *Reactievenster*. De lijnen kunnen een zwakke tot donkere intensiteit hebben – elke lijn aan de “T”-zijde wordt als positief beschouwd. Interpreteer een membraanverkleuring niet als een positief resultaat. Een positief resultaat duidt op de aanwezigheid van *E. histolytica*-antigenen, en dat er een goed reactieve positieve controlelijn is.

3. **Negatief resultaat:** Er is een enkele verticale blauwe lijn zichtbaar op de “C” (linker)-zijde van het *Reactievenster* en er is geen testlijn zichtbaar aan de “T”-zijde van het *Reactievenster*. Een negatief resultaat duidt erop dat het *E. histolytica*-antigeen ofwel in het monster afwezig is of onder de detectiegrens van de test is, en dat er een goed reactieve positieve controlelijn is.
4. **Ongeldig resultaat:** Er is een enkele lijn zichtbaar aan de “T”-zijde van het *Reactievenster*, of er zijn geen lijnen in het *Reactievenster* zichtbaar. De test is ongeldig als er geen controlelijn aanwezig is nadat de testreactie is voltooid.

KWALITEITSCONTROLE

De validiteit van de testresultaten met behulp van de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test is afhankelijk van de juiste reactie van de interne en externe controles.

Intern: Er moet een verticale blauwe controlelijn zichtbaar zijn aan de “C”-zijde van het *Reactievenster* op elk getest *Membraaninstrument*. Dit bevestigt dat het monster en de reagentia correct zijn toegevoegd en goed in de test reageerden. Een heldere achtergrond in het resultaatgedeelte wordt beschouwd als een interne negatieve controle. Deze kan wit tot lichtblauw lijken en eventuele ontwikkelde lijnen zullen duidelijk zichtbaar zijn.

Extern: De reactiviteit van de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test moet na ontvangst met behulp van de *Positieve controle* en negatieve controle (*Verdunner*) worden geverifieerd. De *Positieve controle* bevestigt de reactiviteit van de andere reagentia in verband met de test, en is niet bedoeld om de precisie op de scheidslijn van de analytische test te verzekeren. Er kunnen extra tests worden uitgevoerd met de controles om tegemoet te komen aan de eisen van lokale, overheids- en/of federale regelgevingen en/of accreditende organisaties.

BEPERKINGEN

1. Een negatief testresultaat sluit de mogelijkheid van de aanwezigheid van *E. histolytica*-adhesine in het monster niet uit. Dit kan gebeuren als het antigeenniveau onder de detectiegrens van de test ligt.
2. De *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test is kwalitatief. De intensiteit van de kleur mag niet kwantitatief worden geïnterpreteerd.

VERWACHTE WAARDEN

Normaal gezonde personen behoren niet geïnfecteerd te zijn met *E. histolytica* en dienen negatief te testen in de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test. Een positief testresultaat in de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test duidt erop dat de persoon detecteerbare hoeveelheden van het *E. histolytica*-antigeen afgeeft. De incidentie van een *E. histolytica*-infectie varieert aanzienlijk tussen populaties en geografische gebieden. Geschat wordt dat *Entamoeba histolytica* ongeveer 50 miljoen mensen infecteert over de hele wereld (2). Ruwweg 90% van deze personen blijft asymptomatisch, terwijl ongeveer 10% klinische klachten ontwikkelt, lopend van maagdarmaandoeningen tot leverabcessen. Hoogrisicogroepen omvatten personen die naar het buitenland zijn gereisd, immigranten, immuuncompromiteerde personen, migrantenwerkers, en actieve mannelijke homoseksuelen (2, 3). Niet-pathogene stammen (*E. dispar*) overheersen onder mannelijke homoseksuelen (4). De ziekte wordt vaak overgebracht door asymptomatische dragers van *E. histolytica*.

PRESTATIEKARAKTERISTIEKEN

De prestatie van de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test werd vergeleken met de *E. HISTOLYTICA II*-test en Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica*-test met uiteenlopende monsters, en beslist met behulp van PCR. De fecale monsters omvatten 449 bevroren monsters. Informatie over de leeftijd was beschikbaar voor 350 patiënten. Van de 350 patiënten was 87% ≤ 18 jaar. Informatie over de sekse was beschikbaar voor 424 patiënten, 46% was man en 54% was vrouw. Tabel 1 toont een samenvatting van de klinische prestatie van de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test op alle 3 locaties.

Tabel 1. Samenvatting van de klinische prestatie waarin de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* -test vergeleken wordt met de *E. HISTOLYTICA II*-test, en met de Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica*-test.

n = 449	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Positief	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Negatief
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Positief	94	3
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Negatief	3	349

		95% betrouwbaarheidsinterval
Procent positieve overeenkomst	96,9%	90,6% - 99,2%
Procent negatieve overeenkomst	99,1%	97,3% - 99,8%
Totaal percentage overeenkomst	98,7%	98,5% - 98,9%
*Beslist door PCR – Totaal percentage overeenkomst	99,6%	99,6% - 99,6%

n = 449	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Positief	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Negatief
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Positief	87	10
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Negatief	24	328

		95% betrouwbaarheidsinterval
Procent positieve overeenkomst	78,4%	69,4% - 85,4%
Procent negatieve overeenkomst	97,0%	94,5% - 98,5%
Totaal percentage overeenkomst	92,4%	91,0% - 93,6%
*Beslist door PCR – Totaal percentage overeenkomst	99,3%	99,2% - 99,4%

*De 40 uiteenlopende monsters werden beslist door zuivering van het DNA uit de fecale monsters en polymerasekettingreactie (PCR)-amplificatie voor *E. histolytica*, *E. dispar* en *E. moshkovskii*.

Voor de 6 monsters die verschilden tussen *E. HISTOLYTICA II* en *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: de 3 monsters positief voor *E. HISTOLYTICA II* en negatief voor *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* omvatten 2 *E. histolytica* PCR-positieve en 1 *histolytica* PCR-negatieve monsters. De 3 monsters negatief voor *E. HISTOLYTICA II* en positief voor *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* waren *E. histolytica* PCR-positief.

Voor de 34 monsters die verschilden tussen de Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica*-test en de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: de 24 monsters positief voor Remel™ ProSpec™ en negatief voor *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* omvatten 3 *E. histolytica* PCR-positieven, 13 *E. dispar* PCR-positieven, en 8 *Entamoeba* PCR-negatieven. De 10 monsters negatief voor Remel™ ProSpec™ en positief voor *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* waren *E. histolytica* PCR-positief.

REPRODUCEERBAARHEID

De reproduceerbaarheid van de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test werd bepaald met behulp van 12 fecale monsters die werden gecodeerd om hun identificatie tijdens het testen te voorkomen. De testen werden uitgevoerd in 2 onafhankelijke laboratoria en op locatie bij TECHLAB®, Inc. De monsters werden gedurende een periode van 5 dagen twee keer per dag door verscheidene technici op elke locatie met behulp van 2 verschillende kitlots getest. Er werden een positieve en negatieve controle uitgevoerd met elk paneel van de gemaskeerde monsters. De resultaten van elk laboratorium werden doorgegeven aan TECHLAB®, Inc. en vergeleken met de eigen resultaten van het bedrijf. De resultaten waren consistent tussen de verschillende locaties, en vertoonden een correlatie van 100%. De monsters produceerden 100% van de tijd de verwachte resultaten.

KRUISREACTIVITEIT

De *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test werd geëvalueerd voor kruisreactiviteit met de bacteriële en virale stammen die hieronder zijn opgesomd. Geen van de stammen bleek het resultaat van de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test in de weg te staan.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowen)
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	

Adenovirus, 2, 5, 40, 41	Menselijk adenovirus 1, 3	Menselijk enterovirus 69, 70, 71
Coxsackievirus B5	Menselijk coronavirus	Menselijk parechovirus 1
Echovirus 11, 18, 22, 33	Menselijk coxsackievirus B2, B3, B4	[Echovirus 22]
Enterovirus 68, 69	Menselijk echovirus 9	Menselijk rotavirus

Bovendien werd de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test uitgevoerd op fecale monsters die door middel van microscopie positief gedocumenteerd waren voor andere parasieten. Er werd geen kruisreactiviteit gezien met de volgende organismen.

<i>Entamoeba coli</i>	<i>Chilomastix mesnili</i>	<i>Mijnworm-eieren</i>
<i>Entamoeba dispar</i>	<i>Cyclospora</i> spp.	<i>Iodamoeba bütschlii</i>
<i>Entamoeba moshkovskii</i>	<i>Endolimax nana</i>	<i>Trichomonas hominis</i>
<i>Ascaris lumbricoides</i> -eieren	<i>Giardia</i> spp.	<i>Trichuris trichiura</i> -eieren
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Hymenolepis nana</i>	

INTERFERERENDE STOFFEN (VS-FORMULERING)

De volgende stoffen hadden geen effect op positieve of negatieve testresultaten die in de aangegeven concentraties werden geanalyseerd: Gastrisch varkensmucine (3,5% g/v), menselijke bloed (40% v/v), hydrocortison (40% v/v), bariumsulfaat (5% g/v), imodium® (5% v/v), Kaopectaat® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Maalox® geavanceerd (5% v/v), stearinezuur (40% g/v), palmitinezuur (40% g/v), metronidazol (0,25% g/v), fenylefrine (40% g/v), naproxennatrium (40% g/v), nonoxynol-9 (40% v/v), vancomycine (0,25% g/v), Priolsec OTC® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), Tagamet® (5 µg/ml), Ciprofloxacin (0,25% g/v), Mylanta® (4,2 mg/ml), en menselijke urine (5% v/v).

PRECISIE – INTRATEST

Voor de bepaling van de intratestprestatie werden twaalf menselijke fecale monsters geanalyseerd door de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test. Van deze twaalf monsters waren er zes positief voor *E. histolytica* op variërend niveau (laag, gematigd en hoog) en zes waren negatief voor *E. histolytica*. Elk monster werd vijf keer geanalyseerd in dezelfde testrun, met behulp van twee verschillende kitlots. Tegelijk met elk paneel werden een positieve en negatieve controle uitgevoerd. Alle positieve monsters bleven positief en alle negatieve monsters bleven negatief.

PRECISIE – INTERTEST

Voor de bepaling van de intertestprestatie werden twaalf menselijke fecale monsters geanalyseerd door de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test. Van deze twaalf monsters waren er zes positief voor *E. histolytica* op variërend niveau (laag, gematigd en hoog) en zes waren negatief voor *E. histolytica*. De monsters werden gedurende een periode van 12 dagen met behulp van 2 verschillende kitlots twee keer per dag getest door verscheidene technici. Elke dag werden een positieve en negatieve controle uitgevoerd. Alle positieve monsters bleven positief en alle negatieve monsters bleven negatief.

ANALYTISCHE GEVOELIGHEID

De detectiegrens (LoD) voor de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-test werd vastgesteld op een concentratie van 0,2 ng/ml voor *E. histolytica*-adhesine.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

BRUKSOMRÅDE

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™-test er en hurtig membranenzymimmunanalyse for kvalitativ påvisning av adhesin av *Entamoeba histolytica* i en engangskasset. Den er beregnet på bruk på humane avføringsprøver fra pasienter med diaré eller dysenteri som en hjelp i diagnosen av *E. histolytica* ved gastrointestinal infeksjon. Testresultater kan vurderes sammen med pasienthistorien.

FORKLARING

Entamoeba histolytica og *Entamoeba dispar* er intestinale parasitter som infiserer omtrent en halv milliard mennesker i hele verden hvert år (1). Det er nødvendig å skille mellom de to artene fordi *E. histolytica* er patogen, som forårsaker intestinal amebiasis (dvs. diaré, dysenteri, kolitt) og ekstraintestinal amebiasis (dvs. leverabscess). *E. dispar* er ikke forbundet med symptomatisk sykdom, og unøyaktig diagnose kan resultere i unødvendig behandling. Den mest vanlige metoden brukt til å diagnostisere amebiasis har vært vått feste-mikroskopi som lider av dårlig sensitivitet og spesifisitet. Trofozoitter og cyster identifiseres ikke så lett i en enkelt avføringsprøve, og det er vanskelig å skille visuelt mellom *E. dispar* og *E. histolytica* når disse forekommer. Påvisning av *Entamoeba* spp. med immunanalyse gir en alternativ diagnosemetode med høyere sensitivitet (2). Spesifikke immunanalyser for *E. histolytica*, f.eks. E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™-testen, gir den ekstra fordelene med bare å påvise infeksjoner med *E. histolytica*. Et stort antall prøver kan testes raskt og objektivt, og prosedyren er mindre arbeidskrevende enn de fleste andre diagnosemetodene.

PRINSIPPET FOR TESTEN

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™-testen bruker spesifikke antistoffer for *E. histolytica*. Membranenheter inneholder et Reaksjonsvindu med to vertikale linjer med immobiliserte antistoffer. Testlinjen ("T") inneholder monoklonale antistoffer spesifikke for *E. histolytica*-adhesin. Kontrollinjen ("C") inneholder antistoffer mot pepperrotperoksidase (HRP). Konjugatet består av antistoffer mot *E. histolytica* bundet til pepperrotperoksidase. For å utføre testen legges prøven til et glass som inneholder en blanding av Fortynningsmiddel og Konjugat. Den fortynte prøve-konjugat-blandingen tilsettes prøvebrønnen, og enheten inkuberes ved romtemperatur i 15 minutter. I løpet av inkuberingen bindes *E. histolytica*-adhesin i prøven til antistoff-peroksidase-konjugatet. Antigen-antistoff-peroksidase-kompleksene migrerer gjennom en filterpute til en membran der de tas opp av immobiliserte anti-adhesin-antistoffer i linjene. Reaksjonsvinduet vaskes deretter med Vaskebuffer, etterfulgt av tilsetningen av Substrat. Etter en 10 minutters inkuberingsperiode undersøkes Reaksjonsvinduet visuelt for forekomst av vertikale blå linjer på "C"- og "T"-siden av Reaksjonsvinduet. En blå linje på "T"-siden av Reaksjonsvinduet angir et positivt resultat. En positiv "C"-reaksjon, angitt med en vertikal blå linje på "C"-siden av Reaksjonsvinduet, kontrollerer/bekrefter at prøven og reagensene ble riktig tilsatt, reagensene var aktive på tidspunktet analysen ble utført og at prøven migrerte riktig gjennom Membranenheter. Det bekrefter også reaktiviteten til de andre reagensene som er tilknyttet analysen.

MEDFØLGENDE MATERIALER

MEM DEV

Membranenheter – hver pose inneholder 1 enhet

CONJ ENZ

Konjugat (2 ml) – spesifikt antistoff mot *E. histolytica* bundet til pepperrotperoksidase i en bufret proteinløsning

DIL SPE

Fortynningsmiddel (16 ml) – bufret proteinløsning med svart gradert dråpetellerenhet

CONTROL +

Positiv kontroll (1 ml) – *E. histolytica*-antigen i en bufret proteinløsning

SUBS REAG

Substrat (3,5 ml) – løsning som inneholder tetrametylbenzidin

WASH REAG

Vaskebuffer (12 ml) – bufret løsning med hvit gradert dråpetellerenhet

Plastpipetter for engangsbruk (50) – gradert med 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL og 500 µL

IND

Medisinsk utstyr til *in vitro*-diagnostikk

NØDVENDIGE MATERIALER OG UTSTYR SOM IKKE MEDFØLGER

Små prøveglass (f.eks., plastrør for mikrosentrifuge)
Engangshansker

Pipette og spisser

Treappikatorpinner
Timer

LEVETID OG OPPBEVARING

Settets utløpsdato er angitt på etiketten på kittesken. Oppbevar settet mellom 2 °C og 8 °C. Sett settet tilbake i kjøleskapet så fort som mulig etter bruk.

FORHOLDSREGLER

- Ved levering inspisere settet for å garantere at komponentene ikke er frosne eller varme ved berøring på grunn av feil forsendelsesbetingelser, og at det ikke finnes tegn på lekkasje.
- Bring alle komponenter til romtemperatur for bruk for å sikre riktig reaktivitet i settet.
- Substratreagensen skal være fargeløs. Hvis Substratreagensen endres til en mørk blå/fiolett farge, avhend og ring tekniske tjenester for utskifting.
- Reagenser fra ulike sett skal ikke blandes eller veksles med hverandre. Settet må ikke brukes etter utløpsdatoen.
- Hetter, spisser og dråpetellerenheter er fargekodet; de må IKKE blandes eller veksles med hverandre!
- Bruk avføringsprøver innen 72 timer etter taking for å oppnå optimale resultater. Prøver som er frosne, kan miste reaktivitet på grunn av frysing og opptining.
- Testen har blitt optimalisert for sensitivitet og spesifisitet. Endringer av den spesifiserte prosedyren og/eller testbetingelsene kan påvirke sensitiviteten og spesifisiteten til testen. Ikke avvik fra den spesifiserte prosedyren.

NO

- Avføringsprøver og anvendte membranenheter kan inneholde potensielt smittefarlige stoffer og skal håndteres som "biologisk sikkerhetsnivå 2" som anbefalt i CDC/NIH-håndboken "Biologisk sikkerhet i mikrobiologiske og biomedisinske laboratorier". Bruk engangshansker ved utføring av testen.
- Til *in vitro* diagnostikk.

TAKING, HÅNTERING OG OPPBEVARING AV AVFØRINGSPRØVER

Akseptable prøvetyper	Ikke bruk
Ferske avføringsprøver	Avføringsprøver i formalinbasert fiksativ (f.eks. natriumacetatformalin, 10 % formalin)
Frosne avføringsprøver (frosne, uførtynnete)	Avføringsprøver i alkoholbasert fiksativ (f.eks. polyvinylalkohol)
	Avføringsprøver i transportmedier (f.eks. Cary Blair)

- Bruk interne standard prøvetakings- og håndteringsprosedyrer for avføringsprøver. Avføringsprøver tas i rene, lekkasjebestandige beholdere.
- Oppbevar ferske avføringsprøver mellom 2 °C og 8 °C i opptil 72 timer. Frys og oppbevar prøvene ved ≤ -10 °C hvis testing ikke kan utføres innen 72 timer fra taking. Test prøvene før 24 timer er gått når dette er mulig.
- Gjentatte fryse-/tinesykluser bør unngås. Ved bruk av frosne prøver tin opp ved romtemperatur.
- Ikke oppbevar avføringsprøver i Fortynningsmidlet.

TESTPROSEDYRE

- Vær oppmerksom på den totale analys tiden ved testing av mer enn én avføringsprøve.
- Bring alle reagensene og enhetene til romtemperatur for bruk. Fjern reagensene fra skuminnstansen for å redusere tiden som er nødvendig for å varme opp til romtemperatur.
- Sett opp og merk et lite prøveglass for hver prøve, samt alternative eksterne kontroller.**
- Tilsett 500µL Fortynningsmiddel i hvert glass ved hjelp av den svart graderte dråpetellerenheten.**

Prøvetype	Fortynningsmiddelvolum
Ferske avføringsprøver	500 µL
Frosne avføringsprøver (frosne, uførtynnete)	500 µL

- Tilsett én dråpe Konjugat (flaske med rød kork) til hvert glass.** Hold dråpetellerflaskene vertikalt for å sikre riktig dråpestørrelse. Fortynningsmidlet og Konjugatet skal tilsettes til alle glassene før prøvene tilsettes.



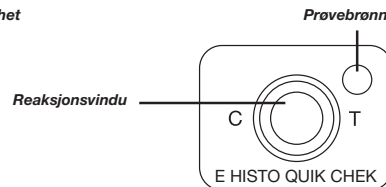
- Ta én overføringspipette i plast for engangsbruk (følger med settet) for hver prøve.

Gradert overføringspipette:



- For flytende/halvfaste prøver** – bland prøven grundig. Med en overføringspipette tilsettes 25 µL av prøven i Fortynningsmiddel-/Konjugatblandingen i glasset.
For formede/tykke prøver – bland prøven grundig ved bruk av en treapplikatorpinne og overfør en liten del (omtrent 2 mm diameter, tilsvarende 25 µL) av prøven til Fortynningsmiddel-/Konjugatblandingen. Emulger prøven ved bruk av applikatorpinnen.
MERK: Overføring av for lite prøve eller ufullstendig blanding og suspensivering av prøven i Fortynningsmiddel-/Konjugatblandingen kan føre til et falskt negativt testresultat. Tilsetningen av for mye prøve kan forårsake ugyldige resultater på grunn av begrenset flyt.
- Alternative eksterne kontroller:**
Ekstern positiv kontroll – tilsett én dråpe av Positiv kontroll (flaske med grå kork) i det respektive prøveglasset.
Ekstern negativ kontroll – tilsett 25 µL Fortynningsmiddel i det respektive prøveglasset.
- For alle test- og kontrollprøver lukkes glassene for blanding med en Vortex-mikser eller ved å snu glasset opp ned flere ganger. Prøver eller kontroller fortynnet i Fortynningsmiddel-/Konjugatblandingen kan inkuberes ved romtemperatur opptil 2 timer før tilsetning av Membranenheter.
- Åpne en Membranenhetspose (som har romtemperatur) for hver fortynnet prøve og ekstern kontroll (etter behov). Merk hver enhet tilsvarende, og orienter den på en flat overflate slik at "E HISTO QUIK CHEK"-påskriften er på bunnen av enheten og den lille Prøvebrønnen befinner seg øverst i høyre hjørne av enheten.

Membranenhet

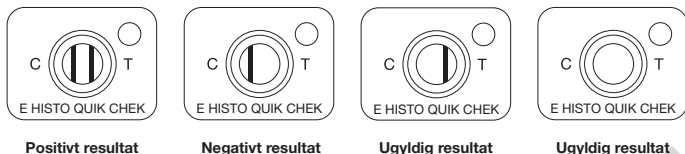


- Kontroller at hver fortynnet prøve er grundig blandet (se trinn 9) før du tilsetter den Membranenheten. Med en ny overføringspipette overføres 500 µL (øverste gradering) fra hvert glass til Prøvebrønnen (mindre hull i det øverste høyre hjørnet på enheten) fra en Membranenhet. Ved tilsetning av prøven i prøvebrønnen se til at spissen på overføringspipetten er på innsiden av prøvebrønnen og vinklet mot Reaksjonsvinduet. Driv den fortynnet prøven ut på viklingsputen på innsiden av Membranenheten.

NO

12. **Inkuber enheten ved romtemperatur i 15 minutter** – prøven vil vikles gjennom enheten, og et vått område vil spres over *Reaksjonsvinduet*. Det 15-minutters inkubasjonstrinnet begynner etter at den siste fortynnede prøve-konjugatblandingen har blitt overført til den siste *Membranenheden*.
MERKNAD FOR PRØVER SOM IKKE MIGRERER:
Noen ganger kan en fortynnert prøve ikke migrere riktig, og *Reaksjonsvinduet* blir ikke helt vått. Hvis *Reaksjonsvinduet* ikke ser ut til å være helt vått innen 5 minutter etter tilsetning av prøven til *Prøvebønnen*, tilsett 100 µl (4 dråper) *Fortynningsmiddel* til *prøvebønnen* og vent i ytterligere 5 minutter (i totalt 20 minutter). Fortsett med neste trinn i *Testprosedyren*.
13. **Etter inkubasjon tilsett 300 µl *Vaskebuffer* til det midtre *Reaksjonsvinduet* ved bruk av den hvit graderte dråpetellerenheten.** La *Vaskebufferen* bli helt absorbert.
14. **Tilsett 2 dråper *Substrat* (flaske med hvit kork) til det midtre *Reaksjonsvinduet*.**
15. Inkuber i 10 minutter ved romtemperatur. Les av visuelt, og loggfør resultatene etter inkubasjon.

TOLKNING AV RESULTATER



Positivt resultat

Negativt resultat

Ugyldig resultat

Ugyldig resultat

MERK: De eksterne kontrollene er bare laget til å kontrollere for store systematiske feil. Hvis de forventede resultatene ikke observeres med de positive og negative kontrollene, kan dette tyde på at kontrollene ikke fungerer slik de skal.

1. Tolkning av testen er mest pålitelig når enheten leses av umiddelbart ved slutten av reaksjonen i et godt opplyst område og direkte over enheten fra en normal arbeidsavstand.
2. **Positivt resultat:** To vertikale blå linjer er synlige, kontrollinjen på "C"-siden (venstre) av *Reaksjonsvinduet* og testlinjen på "T"-siden (høyre) av *Reaksjonsvinduet*. Linjene kan vises svake til mørke i intensitet – en linje på "T"-siden betraktes som positiv. Ikke tolk membranmiskfarging som et positivt resultat. Et positivt resultat indikerer forekomst av *E. histolytica*-antigen, og at det finnes en riktig, reaktiv og positiv kontrollinje.
3. **Negativt resultat:** En enkel, vertikal blå linje er synlig på "C"-siden (venstre) av *Reaksjonsvinduet* og ingen testlinje er synlig på "T"-siden av *Reaksjonsvinduet*. Et negativt resultat indikerer at *E. histolytica*-antigen enten er fraværende i prøven eller under testens påvisningsgrense, og at det finnes en riktig, reaktiv og positiv kontrollinje.
4. **Ugyldig resultat:** En enkel vertikal linje er synlig på "T"-siden av *Reaksjonsvinduet*, eller ingen linjer er synlige i *Reaksjonsvinduet*. Testen er ugyldig hvis en kontrollinje ikke finnes etter at testreaksjonen er fullført.

KVALITETSKONTROLL

Gyldigheten til testresultatene ved bruk av *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testen avhenger av riktig reaksjon i de interne og eksterne kontrollene.

Intern: En vertikal blå kontrollinje må være synlig på "C"-siden av *Reaksjonsvinduet* på hver *Membranenhet* som testes. Det bekrefter at prøven og reagensene ble riktig tilsatt og reagerte riktig i analysen. En klar bakgrunn i resultatområdet anses som en intern negativ kontroll. Den kan vises hvit til lyseblå, og utviklede linjer er godt synlige.

Ekstern: Reaktiviteten til *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testen skal verifiseres ved mottak ved bruk av *Positiv kontroll* og *negativ kontroll* (*Fortynningsmiddel*). Den *Positive kontrollen* bekrefter reaktiviteten til de andre reagensene som er tilknyttet analysen, og er ikke beregnet til å garantere presisjon ved analysens analytiske grense. Flere tester kan utføres med kontrollene for å oppfylle kravene i lokale, statlige og/eller nasjonale forskrifter og/eller akkrediteringsorganisasjoner.

BEGRENSNINGER

1. Et negativt testresultat utelukker ikke muligheten for forekomst av adhesin av *E. histolytica* i prøven. Dette kan forekomme hvis nivået av antigen er under testens påvisningsgrense.
2. *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testen er kvalitativ. Intensiteten til fargen skal ikke tolkes kvantitativt.

FORVENTEDE VERDIER

Normalt friske individer skal ikke være infisert med *E. histolytica*, og skal teste negativt i *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testen. Et positivt testresultat i *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testen indikerer at personen avgir påviselige mengder *E. histolytica*-antigen. Insidensen av en *E. histolytica*-infeksjon varierer signifikant etter populasjon og geografiske regioner. Det estimeres at *Entamoeba histolytica* infiserer cirka 50 millioner mennesker globalt (2). Rundt 90 % av disse menneskene får ingen symptomer, mens cirka 10 % utvikler kliniske symptomer som omfatter alt fra gastrointestinal sykdom til leverabscesser. Høyrisikogrupper omfatter personer som har reist utenlands, immigranter, personer med svekket immunforsvar, migrasjonsarbeidere og aktive, mannlige homoseksuelle (2, 3). Ikke-patogene stammer (*E. dispar*) er dominerende blant mannlige homoseksuelle (4). Sykdommen overføres ofte av asymptomatiske bærere av *E. histolytica*.

BRUKSEGESKAPER

Ytelsen til *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testen ble sammenlignet med *E. HISTOLYTICA II*-test og Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica*-testen med avvikende prøver bestemt med PCR. Avføringsprøver inkluderte 449 frosne prøver. Opplysninger om alder var tilgjengelige for 350 pasienter. Av de 350 pasientene var 87 % < 18 år. Opplysninger om kjønn var tilgjengelige for 424 pasienter, 46 % var menn og 54 % var kvinner. Tabell 1 viser et sammendrag av den kliniske prestasjonen til *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testen på alle 3 steder.

Tabell 1. Sammenheng av klinisk prestasjon ved sammenligning av *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testen med *E. HISTOLYTICA II*-testen og Remel™ ProSpecT™ *Entamoeba histolytica*-testen.

n = 449	<i>E. HISTOLYTICA II</i> positiv	<i>E. HISTOLYTICA II</i> negativ
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> positiv	94	3
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> negativ	3	349

	95 % konfidensintervall
Prosent positiv overensstemmelse	96,9 %
Prosent negativ overensstemmelse	99,1 %
Generell prosent overensstemmelse	98,7 %
*Bestemt med PCR – generell prosent overensstemmelse	99,6 %

n = 449	ProSpecT™ <i>E. histolytica</i> positiv	ProSpecT™ <i>E. histolytica</i> negativ
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> positiv	87	10
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> negativ	24	328

	95 % konfidensintervall
Prosent positiv overensstemmelse	78,4 %
Prosent negativ overensstemmelse	97,0 %
Generell prosent overensstemmelse	92,4 %
*Bestemt med PCR – generell prosent overensstemmelse	99,3 %

*De 40 uoverensstemmende prøvene ble bestemt med purifikasjon av DNA fra avføringsprøvene og amplifikasjon av polymerasekjedereaksjonen (PCR) for *E. histolytica*, *E. dispar* og *E. moshkovskii*.

For de 6 uoverensstemmende prøvene mellom *E. HISTOLYTICA II* og *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: De 3 prøvene positive med *E. HISTOLYTICA II* og negative med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* inkluderte 2 *E. histolytica* PCR-positive og 1 *E. histolytica* PCR-negativ. De 3 prøvene negative med *E. HISTOLYTICA II* og positive med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* var *E. histolytica* PCR-positive.

For de 34 uoverensstemmende prøvene mellom Remel™ ProSpecT™ *Entamoeba histolytica*-testen og *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: De 24 prøvene positive med Remel™ ProSpecT™ og negative med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* inkluderte 3 *E. histolytica* PCR-positive, 13 *E. dispar* PCR-positive og 8 *Entamoeba* PCR-negative. De 10 prøvene negative med Remel™ ProSpecT™ og positive med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* var *E. histolytica* PCR-positive.

REPRODUSERBARHET

Reproduserbarheten til *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testen ble bestemt ved bruk av 12 avføringsprøver som ble kodet for å forhindre identifisering i løpet av testingen. Testing ble utført av 2 uavhengige laboratorier og lokalt hos TECHLAB®, Inc. Prøvene ble testet to ganger per dag over en 5-dagers periode av flere teknikere på hvert sted ved bruk av sett fra 2 forskjellige partier. En positiv og negativ kontroll ble kjørt med hvert panel av maskerte prøvene. Resultatene fra hvert laboratorium ble levert til TECHLAB®, Inc., og sammenlignet med resultater internt. Resultatene var konsistente på tvers av de forskjellige stedene, og hadde en korrelasjon på 100 %. Prøvene ga de forventede resultatene 100 % av tiden.

KRYSSREAKTIVITET

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK-testen ble vurdert for kryssreaktivitet med de bakterie- og virusstammene angitt nedenfor. Ingen av stammene viste seg å forstyrre tyelsen til *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testen.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	

Adenovirus 2, 5, 40, 41	Human Adenovirus 1, 3	Human Enterovirus 69, 70, 71
Coxsackievirus B5	Human coronavirus	Human parechovirus 1
Echovirus 11, 18, 22, 33	Human coxsackievirus B2, B3, B4	[Echovirus 22]
Enterovirus 68, 69	Human Echovirus 9	Human rotavirus

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK-testen ble i tillegg kjørt på avføringsprøver som var dokumentert til positive for andre parasitter ved mikroskopi. Ingen kryssreaktivitet ble observert med de følgende organismene.

<i>Entamoeba coli</i>	<i>Chilomastix mesnili</i>	<i>hakeormegg</i>
<i>Entamoeba dispar</i>	<i>Cyclospora</i> spp.	<i>Iodamoeba bütschlii</i>
<i>Entamoeba moshkovskii</i>	<i>Endolimax nana</i>	<i>Trichomonas hominis</i>
<i>Ascaris lumbricoides</i> egg	<i>Giardia</i> spp.	<i>Trichuris trichiura</i> egg
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Hymenolepis nana</i>	

INTERFERERENDE STOFFER (AMERIKANSK FORMEL)

De følgende stoffene hadde ingen virkning på positive eller negative testresultater analysert ved angitte konsentrasjoner: Gastrisk mucin fra gris (3,5 % w/v), humant blod (40 % v/v), hydrokortison (40 % v/v), bariumsulfat (5 % w/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), Maalox® Advanced (5 % v/v), stearinsyre (40 % w/v), palmitinsyre (40 % w/v), metronidazol (0,25 % w/v), fenylefrin (40 % w/v), naproksennatrium (40 % w/v), ikke-oksynol-9 (40 % v/v), vancomycin (0,25 % w/v), Priolsec OTC® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), Tagamet® (5 µg/ml), ciprofloksacin (0,25 % w/v), Mylanta® (4,2 mg/ml) og humant urin (5 % v/v).

INTRA-ANALYSEPRESTISJON

For bestemmelse av intra-analyseprestasjon ble tolv humane avføringsprøver analysert med *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK-testen. Av disse tolv prøvene var seks positive for *E. histolytica* av varierende nivå (lavt, moderat og høyt), og seks var negative for *E. histolytica*. Hver prøve ble analysert fem ganger i den samme testkjøringen ved bruk av sett fra to forskjellige partier. En positiv og negativ kontroll ble kjørt med hvert panel. Alle positive prøver forble positive, og alle negative prøver forble negative.

INTER-ANALYSEPRESTISJON

For bestemmelse av inter-analyseprestasjon ble tolv humane avføringsprøver analysert med *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK-testen. Av disse tolv prøvene var seks positive for *E. histolytica* av varierende nivå (lavt, moderat og høyt), og seks var negative for *E. histolytica*. Prøvene ble testet to ganger per dag av flere teknikere over en 12-dagers periode ved bruk av sett fra to forskjellige partier. En positiv og negativ kontroll ble kjørt hver dag. Alle positive prøver forble positive, og alle negative prøver forble negative.

ANALYTISK FØLSOMHET

Deteksjonsgrensen (LoD) for *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK-testen ble etablert ved en konsentrasjon på 0,2 ng/ml for *E. histolytica*-adhesin.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

AVSEDD ANVÄNDNING

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™-testet är en snabb immunoanalys av membranenzym för kvalitativt påvisande av adhesion från *Entamoeba histolytica* i en kasset för engångsbruk. Det är avsett att användas med mänskliga faecesprover från patienter med diarré eller dysenteri som en hjälp i diagnosen av mag-tarminfektion med *E. histolytica*. Testresultaten ska övervägas tillsammans med patientens anamnes.

FÖRKLARING

Entamoeba histolytica och *Entamoeba dispar* är tarmparasiter som infekterar cirka en halv miljard människor runtom i världen varje år (1). Det är viktigt att skilja på de två arterna eftersom *E. histolytica* är patogent och orsakar amöbainfektion i tarmen (t.ex. diarré, dysenteri, kolit) och amöbainfektion utanför tarmen (t.ex. leverabscess). *E. dispar* har inget samband med symptomatisk sjukdom och felaktig diagnos kan leda till onödig behandling. Den vanligaste metoden som används för att diagnostisera amöbainfektion har varit mikroskopi med fuktiga objektglas, men den är bristfällig på grund av dålig känslighet och specificitet. Trofozoiter och cystor är inte lätta att identifiera i ett enda faecesprov och det är svårt att visuellt särskilja *E. dispar* och *E. histolytica* när man tittar på dem. Påvisande av *Entamoeba* spp. immunoanalys tillhandahåller en alternativ diagnosmetod med större känslighet (2). Specifika immunoanalyser för *E. histolytica*, såsom *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testet, tillhandahåller den extra fördelen med att endast identifiera *E. histolytica*. Ett stort antal prover kan snabbt och objektivt analyseras och proceduren är mindre arbetskrävande än de flesta andra diagnosmetoder.

TESTPRINCIP

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK-testet utnyttjar specifika antikroppar för *E. histolytica*. *Membranordningen* innehåller ett *Reaktionsfönster* med två vertikala linjer för immobiliserade antikroppar. Testlinjen ("T") innehåller specifika monoklonala antikroppar för *E. histolytica*-adhesin. Kontrollinjen ("C") innehåller antikroppar mot pepparrotsperoxidas (HRP). *Konjugatet* består av antikroppar mot *E. histolytica* kopplade till pepparrotsperoxidas (HRP). För att utföra testet tillsätts provet till ett rör som innehåller en blandning av Spädningsmedel och *Konjugat*. Den utspädda provkonjugatblandningen tillsätts till *Provbotten* och anordningen tillåts inkuberas till rumtemperatur i 15 minuter. Under inkubationen binds något *E. histolytica*-adhesin i provet till antikroppsperoxidas-konjugatet. Antigen-antikroppsperoxidasblandningen förflyttas genom en filterdyna till ett membran där den fångas upp av de immobiliserade anti-adhesinantikropparna i linjen. *Reaktionsfönstret* tvättas därefter med *Tvättbuffert* och därefter tillsätts *Substrat*. Efter 10 minuters inkubation undersöks *Reaktionsfönstret* visuellt för tecken på vertikala blå linjer på *Reaktionsfönstrets* "C"- och "T"-sidor. En blå linje på *Reaktionsfönstrets* "T"-sida indikerar ett positivt resultat. En positiv "C"-reaktion, som indikeras av en vertikal blå linje på *Reaktionsfönstrets* "C"-sida, övervakar/bekräftat att provet och reagenserna tillsattes korrekt, att reagenserna var aktiva vid tidpunkten för analysen och att provet spreds ordentligt genom *Membranordningen*. Det bekräftar också andra reagensers reaktivitet i samband med analysen.

MEDFÖLJANDE MATERIAL

MEM DEV

Membrananordningar – varje påse innehåller 1 anordning

CONJ ENZ

Konjugat (2 ml) – antikroppar specifika för *E. histolytica* kopplade till pepparrotsperoxidas i en buffrad proteinlösning

DIL SPE

Spädningsmedel (16 ml) – buffrad proteinlösning med svarta graderade pipetter

CONTROL +

Positiv kontroll (1 ml) – *E. histolytica*-antigen i en buffrad proteinlösning

SUBS REAG

Substrat (3,5 ml) – lösning som innehåller tetrametylbensidin

WASH REAG

Tvättbuffert (12 ml) – buffrad lösning med vita graderade pipetter

Plastpipetter för engångsbruk (50) – graderade vid 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL och 500 µL

IND

Medicinteknisk produkt för *in vitro*-diagnostik

MATERIAL OCH UTRUSTNING SOM BEHÖVS MEN SOM INTE MEDFÖLJER PRODUKTEN

Små provrör (t.ex. mikrocentrifugrör av plast)

Träapplikatorpinne

Engångshandskar

Pipetter och spetsar

Stoppur

HÅLLBARHET OCH FÖRVARING

Setets utgångsdatum anges på förpackningens etikett. Förvara setet mellan 2 °C och 8 °C. Sätt tillbaka setet i kylskåpet så snart som möjligt efter användning.

FÖRSIKTIGHET

1. Granska setet vid leverans för att säkerställa att komponenterna inte är kalla eller varma, när man vidrör dem, på grund av felaktiga fraktförhållanden, samt att det inte finns några tecken på läckage.
2. Ta fram alla komponenter i rumtemperatur före användning för att säkerställa riktig reaktivitet av setet.
3. *Substrat*-reagenset ska vara färglöst. Om *Substrat*-reagenset ändras till en mörkblå/mörkila färg, kassera det och ring teknisk service för utbyte.
4. Reagenser från olika set får inte blandas eller bytas ut. Använd inte ett set efter passerat utgångsdatum.
5. Korkar, spetsar och pipetter är färgkodade och ska INTE blandas eller bytas ut!
6. Använd faecesprover inom 72 timmar efter insamlade för att uppnå optimala resultat. Prover som är frysta kan förlora reaktivitet på grund av nedfrysning och upptining.
7. Testet har optimerats för känslighet och specificitet. Ändringar i den angivna proceduren och/eller av testförhållanden kan påverka testets känslighet och specificitet. Avvik inte från den angivna proceduren.

- Faecesprover och använda membranordningar kan innehålla potentiellt infektiösa ämnen och ska hanteras på "Biosäkerhetsnivå 2" enligt rekommendationer i bruksanvisningen "Biosäkerhet i mikrobiologiska och biomedicinska laboratorier" från CDC/NIH. Använd engångshandskar vid utförande av testet.
- För *in vitro*-diagnostiskt bruk.

INSAMLING, HANTERING OCH FÖRVARING AV FAECESPROVER

Tillåtna typer av prover
Färska faecesprover
Frysta faecesprover (frysta utspädda)

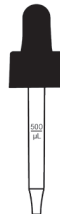
Använd inte
Faecesprover i formalinbaserat fixeringsmedel (t.ex. natriumacetatformalin, 10 % formalin)
Faecesprover i alkoholbaserat fixeringsmedel (t.ex. polyvinylalkohol)
Prover i transportmedia (t.ex. Cary Blair)

- Använd de standardprocedurer som används på laboratoriet för insamlande och hantering av faecesprover. Samla in faecesprover i rena, täta behållare.
- Förvara färska faecesprover mellan 2 °C och 8 °C under 72 timmar. Frys och förvara prover vid ≤ -10 °C om de inte kan undersökas inom 72 timmar efter insamlande. Prover som är äldre än 24 timmar gamla kan undersökas när som helst.
- Upprepad nerfrysning och upptining bör undvikas. Om frysta prover används, ska de tinas upp i rumstemperatur.
- Faecesprover får inte förvaras i *Spädningsmedel*.

TESTPROCEDUR

- Var uppmärksam på den totala analys tiden vid test av fler än ett faecesprov.
- Ta fram alla reagenser och anordningar i rumstemperatur före användning. Ta ut reagenserna ur insatsen av skumplast för att sänka tiden för uppvärmning till rumstemperatur.
- Ställ upp ett litet provrör och sätt på en etikett för varje prov och valfri extern kontroll.**
- Tillsätt 500 µL *Spädningsmedel* i varje rör med hjälp av den graderade pipetten.**

Provtyp	Mängd <i>Spädningsmedel</i>
Färska faecesprover	500 µL
Frysta faecesprover (frysta utspädda)	500 µL



- Tillsätt en droppe *Konjugat* (flaska med röd kork) till varje rör.** Håll pipetten vertikalt för att säkerställa rätt dropstorlek. *Spädningsmedlet* och *Konjugatet* ska tillsättas i alla rör innan proven tillsätts.

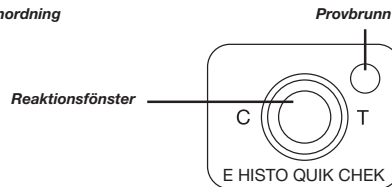
- Ta fram en överföringspipett av plast för engångsbruk (medföljer setet) för varje prov.

Graderad överföringspipett:



- Vätske-/halvfasta prover** - Blanda provet noga. Tillsätt 25 µL av provet med en överföringspipett till *Spädnings-/konjugat*-blandningen i röret.
Formade/fasta prover - Blanda provet noga med en träapplikatorpinne och överför en liten portion (cirka 2 mm i diameter, motsvarande 25 µL) av provet till *Spädnings-/konjugat*-blandningen. Emulgera provet med en applikatorpinne.
*OBS! Överförande av ett för litet prov eller underlåtenhet att blanda och helt vänta med provet i *Spädnings-/konjugat*-blandningen, kan resultera i ett falskt negativresultat. Tillsats av för mycket prov kan leda till ogiltiga resultat på grund av begränsat flöde.*
- Valfria externa kontroller:**
Extern positiv kontroll - tillsätt en droppe *Positiv kontroll* (flaska med grå kork) till lämpligt provrör.
Extern negativ kontroll - tillsätt 25 µL *Spädningsmedel* till lämpligt provrör.
- För alla test och kontrollprov, förslut rören och blanda noga med användning av centrifugen eller genom att vända röret upp och ner flera gånger. Prov eller kontroller som späts ut i *Spädnings-/konjugat*-blandningen kan inkuberas till rumstemperatur i upp till 2 timmar innan det ska tillsättas till *Membrananordningen*.
- Öppna en påse med *Membrananordning* i rumstemperatur för varje utspätt prov och extern kontroll (vid behov). Sätt en etikett på varje anordning på lämpligt sätt och placera den på ett plant underlag så att texten "E HISTO QUIK CHEK" är på anordningens undersida samt att den lilla *Provbrunnen* är på anordningens översta högra hörn.

Membrananordning



- Säkerställ att alla utspädda prov har blandats ordentligt (se steg 9) innan de tillsätts till *Membrananordningen*. **Överför med användning av en ny överföringspipett 500 µL (översta graderingen) från varje rör till *Provbrunnen* (mindre håll på anordningens översta högra hörn) av en *Membrananordning*.** Vid tillsats av provet till *Provbrunnen*, säkerställ att överföringspipettens spets är inuti *Provbrunnens* hål och vinklad mot *Reaktionsfönstret*. Driv ut det utspädda provet på spridningsdynan i *Membrananordningen*.

12. **Inkubera anordningen i rumstemperatur i 15 minuter** – provet kommer att spridas genom anordningen och ett fuktigt område kommer att spridas tvärs över *Reaktionsfönstret*. Inkubationssteget på 15 minuter påbörjas när den sista utspädda prov-konjugatblandningen har överförts till den slutliga *Membrananordningen*.
VAR UPPMÄRKSAM PÅ PROV SOM MISSLYCKAS ATT SPRIDAS:
Då och då misslyckas ett utspätt prov att spridas ordentligt och reaktionsfönstret blir inte helt vitt. Om reaktionsfönstret inte verkar bli helt vitt inom 5 minuter efter att provet har tillsatts till *Provbrunnen*, tillsätt då 100 µL (4 droppar) av Spädningsmedel till *Provbrunnen* och vänta ytterligare 5 minuter (under totalt 20 minuter). Fortsätt med nästa steg av Testproceduren.
13. **Tillsätt, efter inkubationen, 300 µL Tvättbuffert till det mittersta Reaktionsfönstret med hjälp av den graderade vita pipetten.** Låt Tvättbufferten sugas upp helt.
14. **Tillsätt 2 droppar Substrat (flaska med vit kork) till det mittersta Reaktionsfönstret.**
15. Inkubera i rumstemperatur i 10 minuter. Läs av och skriv ner resultaten efter inkubationen.

TOLKNING AV RESULTAT



Positivt resultat



Negativt resultat



Ogiltigt resultat



Ogiltigt resultat

OBS! De externa kontrollerna är endast avsedda för kontroll av grova systematiska fel. Om de förväntade resultaten inte observeras med de positiva och negativa kontrollerna, kan detta indikera att själva kontrollerna inte fungerar korrekt.

1. Tolknigen av testet är pålitligast när anordningen avläses omedelbart när reaktionsperioden har gått, i ett väl upplyst område, och rakt över anordningen i normalt arbetsavstånd.
2. **Positivt resultat:** Två vertikala blå linjer är synliga, kontrollinjen på *Reaktionsfönstrets* "C"-sida (vänster) och testlinjen på *Reaktionsfönstrets* "T"-sida (höger). Linjerna kan vara bleka till mörka i intensitet - någon av linjerna på "T"-sidan anses som positiv. Tolk inte en missfärgning av membranet som ett positivt resultat. Ett positivt resultat indikerar förekomsten av *E. histolytica*-antigen och att det finns en korrekt reaktiv positiv kontrollinje.
3. **Negativt resultat:** En vertikal blå linje är synlig på *Reaktionsfönstrets* "C"-sida (vänster) och ingen testlinje syns på *Reaktionsfönstrets* "T"-sida. Ett negativt resultat indikerar frånvaro av *E. histolytica*-antigen i provet eller att det ligger under spårbarhetsgränsen för testet och att det finns en korrekt reaktiv positiv kontrollinje.
4. **Ogiltigt resultat:** En linje är synlig på *Reaktionsfönstrets* "T"-sida eller så syns inga linjer i *Reaktionsfönstret*. Testet är ogiltigt om det inte finns någon kontrollinje när testreaktionen är slutförd.

KVALITETSKONTROLL

Testresultatens giltighet med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testet beror på korrekt reaktion av de interna och externa kontrollerna.

Intern: En vertikal blå kontrollinje måste synas på *Reaktionsfönstrets* "C"-sida på varje *Membrananordning* som testas. Detta bekräftar att provet och reagenserna tillsattes korrekt och reagerade korrekt på analysen. En klar bakgrund i resultatområdet anses som en intern negativ kontroll. Den kan vara vit till ljusblå och alla linjer som utvecklats ska vara tydligt synliga.

Extern: Reaktiviteten för *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testet ska kontrolleras vid leverans med användning av *Positiv kontroll* och *negativ kontroll* (*Spädningsmedel*). *Positiv kontroll* bekräftar andra reagensers reaktivitet i samband med analysen och är inte avsedd för säkerställande av precision vid avslutning av det analytiska testet. Ytterligare tester kan utföras med kontrollerna för att uppfylla de lokala, statliga och/eller federala kraven och/eller föreskrifter från auktoriserade organisationer.

BEGRENSNINGAR

1. Ett negativt resultat utesluter inte möjligheten till förekomst av *E. histolytica*-adhesin i provet, vilket kan förekomma om antigenivån ligger under spårbarhetsgränsen för testet.
2. *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testet är kvalitativt. Färgintensiteten ska inte tolkas kvantitativt.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Normala friska personer bör inte infekteras med *E. histolytica* och bör testas negativt i *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* test. Ett positivt testresultat i *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testet indikerar att personen faller spårbara mängder av *E. histolytica*-antigen. Förekomsten av *E. histolytica*-infektion varierar betydligt mellan populationer och regioner. Det beräknas att *Entamoeba histolytica* infekterar cirka 50 miljoner människor runt om i världen (2). Ungefär 90 % av dessa personer förblir asymptomatiska medan cirka 10 % utvecklar kliniska symptom från mag-tarmsjukdom till leverabscesser. Högriskgrupper omfattar personer som rest utomlands, invandrare, personer med försvagat immunsystem, gästarbetare och aktiva manliga homosexuella (2, 3). Icke-patogena stammar (*E. dispar*) dominerar bland manliga homosexuella (4). Sjukdomen överförs av asymptomatiska bärare av *E. histolytica*.

PRESTANDAEGENSKAPER

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK-testets prestanda jämfördes med *E. HISTOLYTICA II*-testet och Remel™ ProSpecT™ *Entamoeba histolytica*-testet med avvikande prover som analyserades genom PCR. Faecesprover omfattade 449 frysta prover. Information gällande ålder fanns tillgänglig för 350 patienter. Av de 350 patienterna, var 87 % < 18 år. Information gällande kön fanns tillgänglig för 424 patienter, varav 46 % var män och 54 % var kvinnor. Tabell 1 visar en sammanfattning av *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testets kliniska prestanda vid alla 3 ställena.

Tabell 1. Sammanfattning av klinisk prestanda vid jämförelse av *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testet med *E. HISTOLYTICA II*-testet och Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica*-testet.

n = 449	<i>E. HISTOLYTICA II</i> positivt	<i>E. HISTOLYTICA II</i> negativt
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> positivt	94	3
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> negativt	3	349

	95 % tillförlitlighetsintervall	
Procent positiv överensstämmelse	96,9 %	90,6 % - 99,2 %
Procent negativ överensstämmelse	99,1 %	97,3 % - 99,8 %
Total överensstämmelseprocent	98,7 %	98,5 % - 98,9 %
*Analyserat genom PCR – Total överensstämmelseprocent	99,6 %	99,6 % - 99,6 %

n = 449	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> positivt	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> negativt
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> positivt	87	10
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> negativt	24	328

	95 % tillförlitlighetsintervall	
Procent positiv överensstämmelse	78,4 %	69,4 % - 85,4 %
Procent negativ överensstämmelse	97,0 %	94,5 % - 98,5 %
Total överensstämmelseprocent	92,4 %	91,0 % - 93,6 %
*Analyserat genom PCR – Total överensstämmelseprocent	99,3 %	99,2 % - 99,4 %

*De 40 avvikande proverna analyserades genom rening av DNA från faecesprover och PCR-amplifiering (polymerasedjereaktion) för *E. histolytica*, *E. dispar*, och *E. moshkovskii*.

För de 6 avvikande proverna mellan *E. HISTOLYTICA II* och *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: De 3 positiva proverna med *E. HISTOLYTICA II* och negativa med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* omfattade 2 *E. histolytica* PCR-positiva och 1 *E. histolytica* PCR-negativt. De 3 negativa proverna med *E. HISTOLYTICA II* och positiva med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* var *E. histolytica* PCR-positiva.

För de 34 avvikande proverna mellan Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica*-testet och *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: De 24 positiva proverna med Remel™ ProSpec™ och negativa med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* omfattade 3 *E. histolytica* PCR-positiva, 13 *E. dispar* PCR-positiva, och 8 *Entamoeba* PCR-negativa. De 10 negativa proverna med Remel™ ProSpec™ och positiva med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* var *E. histolytica* PCR-positiva.

REPRODUCERBARHET

Reproducerbarheten för *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* -testet fastställdes med 12 faecesprover som kodades för att förhindra identifiering under testet. Tester utfördes på 2 oberoende laboratorier och på plats i TECHLAB®, Inc. Proverna analyserades 2 gånger per dag under en 5-dagarsperiod av flera tekniker på varje ställe med användning av 2 olika batch av set. En positiv och negativ kontroll kördes med varje fält av de maskerade proverna. Resultaten från varje laboratorium skickades till TECHLAB®, Inc. och jämfördes med de egna resultaten. Resultaten på de olika ställena var överensstämmande och uppvisade en korrelation på 100 %. Proverna gav de förväntade resultaten 100 % av tiden.

KORSREAKTIVITET

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK-testet utvärderades för korsreaktivitet med de bakterie- och virusstammar som anges nedan. Ingen av stammarna visade sig stora *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*-testets prestanda.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowsans)
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	

Adenovirus, 2, 5, 40, 41	Humant adenovirus 1, 3	Humant enterovirus 69, 70, 71
Coxsackievirus B5	Humant coronavirus	Humat parechovirus 1
Echovirus 11, 18, 22, 33	Humant coxsackievirus B2, B3, B4	[Echovirus 22]
Enterovirus 68, 69	Humant echovirus 9	Humant rotavirus

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK-testet kördessutom på faecesprover som var dokumenterade att vara positiva för andra parasiter med mikroskopi. Ingen korsreaktivitet påvisades med följande organismer.

<i>Entamoeba coli</i>	<i>Chilomastix mesnili</i>	Hookworm-ägg
<i>Entamoeba dispar</i>	<i>Cyclospora</i> spp.	<i>Iodamoeba bütschlii</i>
<i>Entamoeba moshkovskii</i>	<i>Endolimax nana</i>	<i>Trichomonas hominis</i>
<i>Ascaris lumbricoides</i> -ägg	<i>Giardia</i> spp.	<i>Trichuris trichiura</i> -ägg
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Hymenolepis nana</i>	

STÖRANDE ÄMNER (U.S. FORMULERING)

Följande ämnen hade ingen effekt på positiva eller negativa testresultat som analyserats vid koncentrationer som anges: Gastriskt mucin från (3,5 % vikt/vol), humanblod (40 % vol/vol), hydrokortison (40 % vol/vol), bariumsulfat (5 % vikt/vol), imodium® (5 % vol/vol), Kaopektat® (5 % vol/vol), Pepto-Bismol® (5 % vol/vol), Maalox® avancerad (5 % vol/vol), stearinsyra (40 % vikt/vol), palmitinsyra (40 % vikt/vol), metronidazol (0,25 % vikt/vol), fenylefrin (40 % vikt/vol), naproxennatrium (40 % vikt/vol), nonoxynol-9 (40 % vol/vol), vankomycin (0,25 % vikt/vol), Priolsec OTC® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), Tagamet® (5 µg/ml), ciprofloxacin (0,25 % vikt/vol), Mylanta® (4,2 mg/ml), och mänsklig urin (5 % vol/vol).

PRECISION – INTRAANALYS

För fastställande av intraanalysprestanda analyserades tolv mänskliga faecesprover med *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK-testet. Av dessa tolv prover var sex positiva för *E. histolytica* på olika nivåer (låg, medel och hög) och sex var negativa för *E. histolytica*. Varje prov analyserades fem gånger i samma testkörning med användning av två olika batch av set. En positiv och negativ kontroll kördes med varje fält. Alla positiva prov förblev positiva och alla negativa prov förblev negativa.

PRECISION – INTERANALYS

För fastställande av interanalysprestanda analyserades tolv mänskliga faecesprover med *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK-testet. Av dessa tolv prover var sex positiva för *E. histolytica* på olika nivåer (låg, medel och hög) och sex var negativa för *E. histolytica*. Proverna testades 2 gånger per dag av flera tekniker under en 12-dagarsperiod med användning av 2 olika batch av set. En positiv och negativ kontroll kördes varje dag. Alla positiva prov förblev positiva och alla negativa prov förblev negativa.

ANALYTISK KÄNSLIGHET

Spårbarhetsgränsen för *E. HISTOLYTICA* QUIK CHEK-testet fastställdes vid en koncentration på 0,2 ng/ml för *E. histolytica*-adhesin.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

KULLANIM AMACI

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ tek kullanımlık kutuda bulunan *Entamoeba histolytica*'dan adezinin kalitatif saptaması için hızlı bir membran enzimi bağışıklık testidir. Kullanım amacı, diyare veya dizanteri hastalarından alınan insan dışkı örneklerinde *E. histolytica* gastrointestinal enfeksiyon tanısında yardım sağlamaktır. Test sonuçları, hastanın hikayesi ile birlikte göz önünde tutulmalıdır.

AÇIKLAMA

Entamoeba histolytica ve *Entamoeba dispar* her yıl dünya çapında yaklaşık beş yüz milyon kişiyi etkileyen bağırsak parazitleridir (1). Bu iki tür arasında ayırım yapılması büyük önem taşımaktadır çünkü *E. histolytica* patojeniktir ve amipli dizanteriye (örn. diyare, dizanteri, kolit) ve amipli dizanteri ötesine (örn. karaciğer apsesi) yol açar. *E. dispar* semptomatik bir hastalık ile ilişkili değildir ve doğru teşhiste bulunulmaması gereksiz tedavi uygulanmasına neden olabilir. Amibiyaz tanısında en sık kullanılan yöntem, yaş preparasyon mikroskop incelemesidir, bu yöntemde hassasiyet ve belirginlik düzeyleri düşüktür. Trofozoitler ve kistler tek bir dışkı örneğinde kolaylıkla tanımlanamaz ve gözlemlenen durumlarda *E. dispar* ve *E. histolytica* arasında görsel olarak ayırım yapmak zordur. *Entamoeba* spp.'nin bağışıklık testi ile sağlanması, hassasiyeti daha yüksek bir alternatif tanı yöntemi sağlar (2). *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testi gibi *E. histolytica*'ya özgü bağışıklık testleri yalnızca *E. histolytica* kaynaklı enfeksiyonların tanımlanabilmesi avantajını sunar. Çok sayıda örnek hızlı ve nesnel bir şekilde test edilebilir ve prosedür diğer tanı yöntemlerinden çok daha az işgücü gerektirir.

TEST PRENSİBİ

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK testi *E. histolytica*'ya özgü antikorlardan faydalanır. *Membran Cihazı*, iki adet dikey immobilize antikor çizgisi ile bir adet *Reaksiyon Bölmesi* içerir. Test çizgisi ("T") *E. histolytica* adezinine özgü monoklonal antikorlar içerir. Kontrol çizgisi ("C") horseradish peroksidad antikorları (HRP) içerir. *Konjugat* Horseradish peroksidad ile birleşmiş *E. histolytica* antikorları içerir. Testi gerçekleştirmek için, örneğin *Seyreltici* ve *Konjugat* karışımı içeren bir tüpe konulması gerekmektedir. Seyreltilmiş örnek - konjugat karışımı *Örnek Çukuru*na eklenir ve cihazın 15 dakika boyunca oda sıcaklığında enkübe olması beklenir. Enkübasyon sırasında örnekte bulunan *E. histolytica* adezinleri antikor-proksidad konjugatına bağlanır. Antijen-antikor-peroksidad kompleksleri bir filtre süzgeci içerisinde membranla doğru ilerler ve burada çizgiye immobilize anti-adezin antikorlar tarafından yakalanır. Bunun ardından, *Reaksiyon Bölmesi* *Yıkama Tamponu* ile yıkanır ve *Substrat* eklenir. 10 dakikalık enkübasyon dönemi sonrasında, *Reaksiyon Bölmesi* gözlemlenir ve *Reaksiyon Bölmesinin* "C" ve "T" kısımlarında dikey mavi çizgi olup olmadığına bakılır. *Reaksiyon Bölmesinin* "T" kısmında mavi bir çizgi bulunması, sonucun pozitif olduğu anlamına gelir. *Reaksiyon Bölmesinin* "C" kısmında yer alan dikey mavi çizgi ile gösterilen pozitif "C" reaksiyonu, örnek ve reaktiflerin doğru şekilde eklendiği, reaktiflerin test sırasında aktif olduğu ve örneğin *Membran Cihazından* düzgün şekilde geçtiğini gösterir/onyalar. Aynı zamanda, test ile ilişkili diğer ayrıçaların reaktifliğini de doğrular.

ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLEN MATERYALLER

MEM DEV

Membran Cihazları – Her kesede 1 cihaz bulunur

CONJ ENZ

Konjugat (2 ml) – Tamponlu bir protein çözümü içinde horseradish peroksidad ile birleşmiş olan *E. histolytica*'ya özgü antikor

DIL SPE

Seyreltici (16 ml) – Siyah, kademeli damlalık tertibatı bulunan tamponlu protein çözümü

CONTROL +

Pozitif Kontrol (1 ml) – Tamponlu protein çözümü içerisinde *E. histolytica* antijeni

SUBS REAG

Substrat (3,5 ml) – Tetrametilbenzidin içeren çözümü

WASH REAG

Yıkama Tamponu (12 ml) – Beyaz kademeli damlalık tertibatı bulunan tamponlu çözümü

Tek kullanımlık plastik pipetler (50) – 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL ve 500 µL ölçekli

IMD

In Vitro Tıbbi Teşhis Cihazı

GEREKİLİ OLAN ANCAK ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLMİYEN MATERYAL VE EKİPMANLAR

Küçük test tüpleri (örn. plastik mikrosantrifüj tüpleri)

Tek kullanımlık eldivenler

Pipet cihazı ve uçları

Ahşap Uygulama Çubukları

Zamanlayıcı

RAF ÖMRÜ VE SAKLAMA

Kitin son kullanım tarihi kit kutusu etiketi üzerinde yer alır. Kiti 2°C ile 8°C arası sıcaklıkta saklayın. Kullanım sonrasında, kiti mümkün olan en kısa sürede buzdolabınaletin.

ÖNLEMLER

1. Teslim alındığında, kiti kontrol ederek bileşenlerin uygun su nakliye koşulları nedeniyle donmuş ya da ısınmış olup olmadığından ve sızıntı emaresi olmadığından emin olun.
2. Kit reaktivitesinin uygunluğunu sağlamak için kullanımı öncesinde tüm bileşenleri oda sıcaklığında getirin.
3. *Substrat* ayrırcı renksiz olmalıdır. *Substrat* ayrırcı koyu mavi/mor bir renk alırsa, atın ve değiştirilmesi için Teknik Servisi arayın.
4. Farklı kitlerin ayrırcıları karıştırılmamalı ya da dönüşümlü olarak kullanılmamalıdır. Son kullanım tarihi geçmiş kitleri kullanmayın.
5. Kapaklar, uçlar ve damlalık tertibatları renklerle işaretlenmiştir, bunları KARIŞTIRMAYIN ya da birbirinin yerine KULLANMAYIN!

- En iyi sonuçları elde etmek için 72 saat içerisinde topladığınız dışkı örneklerini kullanın. Donmuş örnekler, donma ve çözünme nedeniyle reaktifliğini kaybedebilir.
- Test hassasiyet ve özgüllük açısından optimize edilmiştir. Belirtilen prosedür ve/veya test koşullarında değişiklik olması, testin hassasiyetini ve özgüllüğünü etkileyebilir. Belirtilen prosedürün dışına çıkmayın.
- Dışkı örnekleri ve kullanılmış membran cihazları, potansiyel olarak bulaşıcı maddeler içerebilir ve CDC/NIH Kılavuzu "Mikrobiyolojik ve Biyomedikal Laboratuvarlarda Biyogüvenlik" içerisinde önerilen şekilde "2. Seviye Biyogüvenlik" tedbirleri çerçevesinde kullanılmalıdır. Testi gerçekleştirirken tek kullanımlık eldiven takın.
- In vitro* tanısal kullanım içindir.

DİŞKİ ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI, İŞLEME ALINMASI VE DEPOLANMASI

Kabul Edilebilir Örnek Türleri	Kullanmayın
Taze Dışkı Örnekleri	Formalin bazlı fiksatif içinde tutulan dışkı örnekleri (örn. sodyum asetat formalin, %10 formalin)
Donmuş Dışkı Örnekleri (donmuş ve seyretilmemiş)	Alkol bazlı fiksatif içinde tutulan dışkı örnekleri (örn. polivinil alkol)
	Nakliye aracı içerisinde tutulan örnekler (örn. Cary Blair)

- Dışkı örnekleri için standart kurum içi toplama ve işleme alma prosedürlerini kullanın. Dışkı örneklerini temiz, sızdırmaz kaplara alın.
- Taze dışkı örneklerini 72 saate kadar 2°C ile 8°C arası sıcaklıkta saklayın. Test, örneğin toplanmasını takip eden 72 saat içinde gerçekleştirilmeyecekse, örnekleri dondurun ve ≤ -10°C sıcaklıkta saklayın. Mümkün olan durumlarda 24 saatten daha kısa süre önce toplanmış örnekleri test edin.
- Dondurma/çözme döngülerinin yinelenmesinden kaçınılmalıdır. Donmuş örnek kullanacaksanız, örnekleri oda sıcaklığında çözün.
- Dışkı örneklerini *Seyreltilici* içinde saklamayın.

TEST PROSEDÜRÜ

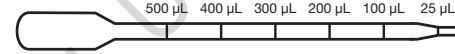
- Birden fazla dışkı örneğini test ederken toplam test süresine dikkat edin.
- Kullanım öncesinde tüm ayaçları ve cihazları oda sıcaklığına getirin. Ayaçların oda sıcaklığına gelmesi için gereken süreyi azaltmak amacıyla reaktifleri köpük koruyucudan çıkarın.
- Her bir örnek için küçük bir test tüpü ayırın ve etiketleyin, bunları harici kontrol için de gerçekleştirin.**
- Siyah kademeli damlalık tertibatını kullanarak her bir tüpe 500µL of *Seyreltilici* ekleyin.**

Örnek Türü	<i>Seyreltilici</i> Hacmi
Taze Dışkı Örnekleri	500 µL
Donmuş Dışkı Örnekleri (donmuş ve seyretilmemiş)	500 µL



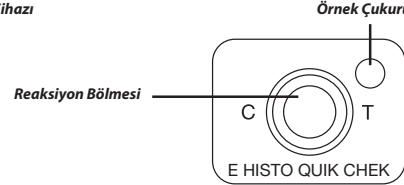
- Her bir tüpe bir damla *Konjugat* (kırmızı kapaklı şişe) ekleyin.** Damla boyutunun uygun olmasını sağlamak için damlayıcı şişesini dik tutun. Örnekler eklenmeden önce *Seyreltilici* ve *Konjugat*ın tüm tüplere eklenmiş olması gerekmektedir.
- Her bir örnek için bir tek kullanımlık plastik transfer pipeti (kit ile birlikte verilir) alın.

Ölçekli Aktarım Pipeti:



- Sıvı/Yarı Katı Örnekler için - Örneği iyice karıştırın. Bir transfer pipeti kullanarak tüpteki *Seyreltilici/Konjugat* karışımına 25 µL örnek ekleyin.
Şekilli/Katı Örnekler için - Örneği ahaşp bir uygulama çubuğu kullanarak iyice karıştırın ve az miktarda (yaklaşık 2 mm çaplı, 25 µL miktarda) örneği *Seyreltilici/Konjugat* karışımına aktarın. Uygulama çubuğunu kullanarak örneği emülsiyon haline getirin.
NOT: Çok az örnek aktarılması ya da örneğin karıştırılmaması veya *Seyreltilici/Konjugat* karışımında yeterli kadar bekletilmemesi, yalnızca negatif test sonucu alınmasına neden olabilir. Çok fazla örnek eklenmesi, kısıtlı örnek akışı nedeniyle geçersiz sonuçlar alınmasına neden olabilir.
- İsteğe Bağlı Harici Kontroller:**
Harici Pozitif Kontrol - uygun test tüpüne bir damla *Pozitif Kontrol* (gri kapaklı şişe) ekleyin.
Harici Negatif Kontrol - uygun test tüpüne 25 µL *Seyreltilici* ekleyin.
- Tüm test ve kontrol örneklerinde, tüpleri kapatın ve bir vorteks karıştırıcı kullanarak ya da tüpü birkaç defa çevirerek iyice karıştırın. *Seyreltilici/Konjugat* karışımında seyretilen örnekler veya kontroller *Membran Cihazının* eklenmesinden 2 saat öncesine kadar oda sıcaklığında enkübe edilebilir.
- Seyreltilmiş her bir örnek ve harici kontrol için (gerekli şekilde) bir adet oda sıcaklığında *Membran Cihazı* kesesi açın. Her bir cihazı uygun şekilde etiketleyin ve düz bir yüzey üzerinde, "E HISTO QUIK CHEK" yazısı aşağı, küçük *Örnek Çukuru* da cihazın sağ üst köşesine gelecek şekilde tutun.

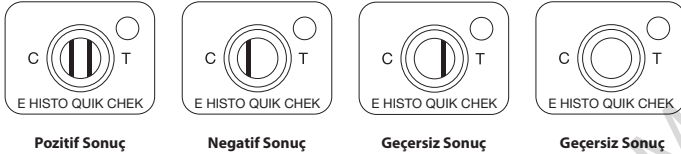
Membran Çukuru



- Membran Cihazını* eklemeyen önce seyretilmiş her bir örneğin iyice karıştırıldığından (bkz. 9. adım) emin olun. **Yeni bir transfer pipeti kullanarak her bir tüpten 500 µL (en üst kademeye) alarak bir *Membran Cihazının* Örnek Çubuğuna** aktarın (cihazın sağ üst köşesinde bulunan küçük delik). Örneği, Örnek çubuğuna eklerken transfer pipetinin ucunun Örnek Çubuğu deliği içerisinde olduğundan ve *Reaksiyon Bölmesine* doğru olduğundan emin olun. Seyreltilmiş örneğin *Membran Cihazı* içindeki emme bölümüne geçmesine özen gösterin.

12. **Cihazı 15 dakika boyunca oda sıcaklığında enkübe edin** – örnek cihaz içinde emilecek ve *Reaksiyon Bölmesi* boyunca ıslak bir alan belirecektir. 15 dakikalık enkübasyon aşaması, en son seyreltilmiş olan örnek-konjugat karışımı son *Membran Cihazına* eklendikten sonra başlar.
- DAĞILMAYAN ÖRNEKLER İÇİN NOT:**
Bazı durumlarda, seyreltilmiş bir örnek uygun şekilde dağılmaz ve *Reaksiyon Bölmesi* tamamen ıslanmaz. *Reaksiyon Bölmesi*, örnek, Örnek Çukuru'na eklendikten sonraki 5 dakika içerisinde tamamen ıslanmazsa, Örnek Çukuru'na 100 µl (4 damla) Seyreltici ekleyin ve 5 dakika daha bekleyin (toplam 20 dakika). Test Prosedürünün bir sonraki adımına ilerleyin.
13. **Enkübasyon sonrasında, beyaz kademeli damlalık tertibatını kullanarak, 300 µl Yıkama Tamponunu ortadaki *Reaksiyon Bölmesine* ekleyin.** Yıkama Tamponunun tamamen emilmesine izin verin.
14. **Ortadaki *Reaksiyon Bölmesine* 2 damla Substrat (beyaz kapaklı şişe) ekleyin.**
15. Oda sıcaklığında 10 dakika boyunca enkübe edin. Enkübasyon sonrasında sonuçları görsel olarak gözlemleyin ve kaydedin.

SONUÇLARIN YORUMLANMASI



Pozitif Sonuç

Negatif Sonuç

Geçersiz Sonuç

Geçersiz Sonuç

NOT: Harici Kontroller, yalnızca kaba sistematik hataları izlemek amaçlıdır. Beklenen sonuçlar pozitif ve negatif kontroller ile gözlemlenemediğinde, bu durum kontrollerin doğru şekilde çalışmadığı anlamına gelebilir.

- Test yorularmasının güvenilirliği için cihazın, reaksiyondan hemen sonra, iyi aydınlatılan bir alanda, normal çalışma mesafesinde doğrudan cihaz üzerinden okunması gerekmektedir.
- Pozitif Sonuç:** İki dikey mavi çizgi görünür durumdadır; *Reaksiyon Bölmesi*nin solunda bulunan "C" üzerindeki kontrol çizgisi ve *Reaksiyon Bölmesi*nin sağında bulunan "T" üzerindeki test çizgisi. Çizgiler, açık veya koyu yoğunlukta olabilir - "T" üzerindeki tüm çizgiler pozitif sonuç olarak yorumlanır. Membran renk değişimini pozitif sonuç olarak yorumlamayın. Pozitif sonuç *E. histolytica* antijeninin bulunduğunu ve uygun reaktivitede pozitif kontrol çizgisi olduğunu gösterir.
- Negatif Sonuç:** *Reaksiyon Bölmesi*nin solunda bulunan "C" üzerinde tek bir mavi çizgi bulunmakta ancak *Reaksiyon Bölmesi*nin sağında bulunan "T" üzerinde test çizgisi görülmemektedir. Negatif bir sonuç, örnekte *E. histolytica* antijeninin bulunmadığını veya test algılama limitinin altında olduğunu ve uygun reaktif pozitif kontrol çizgisi bulunduğunu gösterir.
- Geçersiz Sonuç:** *Reaksiyon Bölmesi*nin "T" kısmında tek bir çizgi var ya da *Reaksiyon Bölmesi*nde çizgi yok. Test reaksiyonu tamamlandığında kontrol çizgisi bulunmadığında, test geçersizdir.

KALİTE KONTROLÜ

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK testi kullanılarak elde edilen sonuçların geçerliliği dahili ve harici kontrollerin uygun reaksiyonuna bağlıdır.

Dahili: Test edilen tüm *Membran Cihazlarında Reaksiyon Bölmesi*nin "C" kısmında dikey mavi bir çizgi görülmelidir. Bu, örnek ve ayrıracın doğru şekilde eklendiğini ve testte uygun şekilde tepki verdiğini doğrular. Sonuç alanının arka planının berrak olması, dahili negatif kontrol olarak görülür. Beyaz ile açık mavi arası bir renkte olabilir ve burada geliştirilen çizgiler net bir şekilde görülebilir olacaktır.

Harici: *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testinin reaktivitesi, teslimat sonrasında *Pozitif Kontrol* ve negatif kontrol (*Seyreltici*) kullanılarak doğrulanmalıdır. *Pozitif Kontrol* test ile ilişkili diğer ayrıracın reaktivitesini test eder ve analitik test geçirimliliğini sağlamak üzere tasarlanmıştır. Yerel, devlet ve/veya federal yetkisel kurumlar ve/veya akreditasyon kurumlarının gerekliliklerini karşılamak için ilave testler yapılabilir.

SINIRLAMALAR

- Negatif bir test sonucu örnekte *E. histolytica* adezininin bulunma olasılığını devre dışı bırakmaz, antijen düzeyi, test algılama limitinin altında olabilir.
- E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testi nitel bir testtir. Rengin yoğunluğu nicel olarak yorumlanmamalıdır.

BEKLENEN DEĞERLER

Normal, sağlıklı bireylerde *E. histolytica* enfeksiyonu bulunmamalı ve *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testi negatif sonuçlanmalıdır. *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testinin pozitif sonuç vermesi kişide algılanabilir düzeyde *E. histolytica* antijeni bulunduğu anlamına gelir. *E. histolytica* enfeksiyonu, popülasyonlar ve coğrafi bölgeler arasında önemli düzeyde değişiklik gösterir. *Entamoeba histolytica* dünya çapında yaklaşık 50 milyon kişiyi etkilediği tahmin edilmektedir (2). Bu kişilerin kabaca %90'ı semptom göstermezken, %10'u gastrointestinal hastalıklardan karaciğer apselerine kadar değişen klinik semptomlar göstermektedir. Yüksek riskli gruplar yurtdışına seyahat etmiş olan kişiler, göçmenler, bağışıklık yetmezliği olanlar, göçmen işçiler ve aktif erkek homoseksüelleri (2, 3) içerir. Patojenik olmayan türler (*E. dispar*) erkek homoseksüellerde baskın olarak görülmektedir (4). Hastalık sıklıkla, *E. histolytica*nın semptom göstermeyen taşıyıcıları ile aktarılmaktadır.

PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK testi performansı *E. HISTOLYTICA II* testi ve Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* testile, PCR ile çözümlenmiş farklı örnekler kullanılarak karşılaştırılmıştır. Dışkı örnekleri, 449 donmuş örnek içermiştir. 350 hasta için yaş bilgisi sunulmuştur. 350 hasta arasında %87'si 18 yaşından küçük veya 18 yaşındadır. 424 hasta için cinsiyet bilgisi mevcuttur ve bunların %46'sı erkek, %54'ü kadındır. Tablo 1'de 3 merkezün tümünde *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testinin klinik performansının özeti gösterilmektedir.

Tablo 1. E. HISTOLYTICA QUIK CHEK testinin E. HISTOLYTICA II testi ve Remel™ ProSpec™ Entamoeba histolytica testi ile karşılaştırılmasını içeren klinik performans özeti.

n = 449	E. HISTOLYTICA II Pozitif	E. HISTOLYTICA II Negatif
E. HISTOLYTICA QUIK CHEK Pozitif	94	3
E. HISTOLYTICA QUIK CHEK Negatif	3	349

	%95 Güven Aralığı	
Yüzde Pozitif Eşleşmesi	%96,9	%90,6 - %99,2
Yüzde Negatif Eşleşmesi	%99,1	%97,3 - %99,8
Genel Yüzde Eşleşmesi	%98,7	%98,5 - %98,9
*PCR ile çözümlenmiştir – Genel Yüzde Eşleşmesi	%99,6	%99,6 - %99,6

n = 449	ProSpec™ E. histolytica Pozitif	ProSpec™ E. histolytica Negatif
E. HISTOLYTICA QUIK CHEK Pozitif	87	10
E. HISTOLYTICA QUIK CHEK Negatif	24	328

	%95 Güven Aralığı	
Yüzde Pozitif Eşleşmesi	%78,4	%69,4 - %85,4
Yüzde Negatif Eşleşmesi	%97,0	%94,5 - %98,5
Genel Yüzde Eşleşmesi	%92,4	%91,0 - %93,6
*PCR ile çözümlenmiştir – Genel Yüzde Eşleşmesi	%99,3	%99,2 - %99,4

*40 farklı örnek, DNA'nın dışı örneklerinden arındırılması ve E. histolytica, E. dispar ve E. moshkovskii polimeraz zincirleme tepkimesi (PCR) amplifikasyonu ile çözümlenir.

E. HISTOLYTICA II ve E. HISTOLYTICA QUIK CHEK arasında 6 farklı örnek için: E. HISTOLYTICA II ile pozitif sonuç veren 3 örnek ile E. HISTOLYTICA QUIK CHEK ile negatif sonuç veren 3 örnek, 2 adet E. histolytica PCR-pozitif 1 adet 1 E. histolytica PCR-negatif içermektedir. E. HISTOLYTICA II ile negatif sonuç veren 3 örnek ile E. HISTOLYTICA QUIK CHEK ile pozitif sonuç veren 3 örnek E. histolytica PCR-pozitifdir.

Remel™ ProSpec™ Entamoeba histolytica testi ile E. HISTOLYTICA QUIK CHEK arasında uygulanan 34 farklı örnek için: Remel™ ProSpec™ ile pozitif sonuç veren ve E. HISTOLYTICA QUIK CHEK ile negatif sonuç veren 24 örnek arasında 3 E. histolytica PCR-pozitif, 13 E. dispar PCR-pozitif ve 8 Entamoeba PCR-negatif yer almaktadır. Remel™ ProSpec™ ile negatif sonuç veren 10 örnek ile E. HISTOLYTICA QUIK CHEK ile pozitif sonuç veren 3 örnek E. histolytica PCR-pozitifdir.

TEKRARLANABİLİRLİK

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK testinin tekrarlanabilirliği, test sırasında tanımlanmamak üzere kodlanmış 12 adet dışı örneği kullanılarak test edilmiştir. Test, 2 bağımsız laboratuvar ve TECHLAB®, Inc'te merkezde yürütülmüştür. Örnekler, 2 farklı kit partisi kullanılarak her bir merkezde birden fazla teknisyen tarafından 5 gün boyunca günde iki defa test edilmiştir. Her bir maskelenmiş numune panelinde pozitif ve negatif kontroller çalıştırılmıştır. Her bir laboratuvarından alınan sonuçlar TECHLAB®, Inc'e gönderilmiş ve kurum içi sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Farklı konumlar arası sonuçlar tutarlı sonuç vermiş ancak %100 oranda ilişki bulunduğunu göstermiştir. Örnekler, %100 oranda beklenen sonuçları vermiştir.

ÇAPRAZ REAKSİYON

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK testi, aşağıda listelenmiş olan bakteri ve virüs türleri ile çapraz reaksiyon açısından değerlendirilmiştir. Türlerin hiçbirinin E. HISTOLYTICA QUIK CHEK testinin performansını etkilediği gözlemlenmemiştir.

<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Campylobacter coli</i> <i>Campylobacter fetus</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Candida albicans</i> <i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Clostridium difficile</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Escherichia coli</i> 0157:H7 <i>Escherichia coli</i> ETEC <i>Escherichia coli</i> EPEC <i>Escherichia coli</i> EIEC <i>Klebsiella pneumonia</i> <i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella sonnei</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's) <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Yersinia enterocolitica</i>
Adenovirüs 2, 5, 40, 41 Koksakivirüs B5 Ekovirüs 11, 18, 22, 33 Enterovirüs 68, 69	İnsan Adenovirüs 1, 3 İnsan Koronavirüs İnsan Koksakivirüs B2, B3, B4 İnsan Ekovirüs 9	İnsan Enterovirüs 69, 70, 71 İnsan parekovirüs 1 [Ekovirüs 22] İnsan Rotavirüs

Buna ek olarak, E. HISTOLYTICA QUIK CHEK testi, diğer parazitler içerdiği mikroskopi ile belgelenen dışı örnekleri üzerinde de yürütülmüştür. Aşağıdaki organizmalar ile herhangi bir çapraz reaksiyon gözlemlenmemiştir.

<i>Entamoeba coli</i> <i>Entamoeba dispar</i> <i>Entamoeba moshkovskii</i> <i>Ascaris lumbricoides</i> yumurtaları <i>Blastocystis hominis</i>	<i>Chilomastix mesnili</i> <i>Cyclospora</i> spp. <i>Endolimax nana</i> <i>Giardia</i> spp. <i>Hymenolepis nana</i>	<i>Hookworm</i> yumurtaları <i>Iodamoeba bütschlii</i> <i>Trichomonas hominis</i> <i>Trichuris trichiura</i> yumurtaları
--	---	---

ETKİLEŞEN MADDELER (ABD FORMÜLASYONU)

Belirtilen derişimlerde analiz edildiğinde, aşağıdaki maddelerin pozitif veya negatif test sonuçları üzerinde herhangi bir etkisinin görülmediği gözlemlenmiştir: Domuz gastrik müsinini (%3,5 w/v), İnsan kanı (%40 v/v), Hidrokortizon (%40 v/v), Baryum sülfat (%5 w/v), Imodium® (%5 v/v), Kaopectate® (%5 v/v), Pepto-Bismol® (%5 v/v), Maalox® Gelişmiş (%5 v/v), Sterik Asit (%40 w/v), Palmitik Asit (%40 w/v), Metronidazol (%0,25 w/v), Fenilefrin (%40 w/v), Naproksen Sodyum (%40 w/v), Nonoksolin-9 (%40 v/v), Vankomisin (%0,25 w/v), Priolsec OTC® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), Tagamet® (5 µg/ml), Siprofloksazin (%0,25 w/v), Mylanta® (4,2 mg/ml) ve İnsan İdrarı (%5 v/v).

HASSASLIK – TESTLER ARASI

Testler arası performansın belirlenmesi için on iki insan dışkı örneği *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testi tarafından analiz edilmiştir. Bu on iki örnekten altısı *E. histolytica* için farklı düzeylerde (düşük, orta ve yüksek) pozitif, altısı ise *E. histolytica* için negatif sonuç vermiştir. Her bir örnek, aynı test sırasında iki farklı kit partisi kullanılarak beş defa değerlendirilmiştir. Her bir panel ile birlikte pozitif ve negatif bir kontrol yürütülmüştür. Tüm pozitif örnekler pozitif, tüm negatif örnekler de negatif kalmıştır.

HASSASLIK – TEST İÇİ

Test içi performansın belirlenmesi için on iki insan dışkı örneği *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* testi tarafından analiz edilmiştir. Bu on iki örnekten altısı *E. histolytica* için farklı düzeylerde (düşük, orta ve yüksek) pozitif, altısı ise *E. histolytica* için negatif sonuç vermiştir. Örnekler 2 farklı kit partisi kullanılarak 12 günlük dönemde birden fazla teknisyen tarafından günde iki defa test edilmiştir. Her gün pozitif ve negatif bir kontrol yürütülmüştür. Tüm pozitif örnekler pozitif, tüm negatif örnekler de negatif kalmıştır.

ANALİTİK HASSASİYET

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK testi için Algılama Sınırı (LoD) *E. histolytica* adezin için 0,2 ng/ml olarak belirlenmiştir.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

UTILIZARE

Testul TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ este un imunodozaj rapid al enzimelor pentru detectarea calitativă a adevinei *Entamoeba histolytica* într-o casetă de unică folosință. Este concepută pentru utilizarea cu mostre coprologice de la pacienți care suferă de diaree sau dizenterie și pentru diagnosticarea infecției gastrointestinale E. histolytica. Rezultatele testului trebuie analizate în contextul istoricului pacientului.

EXPLICAȚIE

Entamoeba histolytica și *Entamoeba dispar* sunt paraziți intestinali care infectează aproximativ o jumătate de miliard de persoane anual (1). Este necesar să facem o distincție între cele două specii, deoarece E. histolytica este patologică și provoacă amoebiază intestinală (de exemplu, diaree, dizenterie, colită) și amoebiă extra-intestinală (de exemplu, abcese hepatice). E. dispar nu este asociată cu o boală simptomatică, iar diagnosticarea incorectă poate conduce la o terapie inutilă. Metoda cea mai comună de diagnosticare a amoebiazei este cea prin examinare microscopică cu obiectiv umed, căreia îi lipsesc, însă, sensibilitatea și specificitatea. Identificarea trofozoitilor și a chisturilor nu este ușor de realizat pe o singură mostră coprologică, iar E. dispar și E. histolytica sunt dificil de distins prin observație. Detectarea speciilor de Entamoeba prin imunodozaj oferă o metodă alternativă de diagnosticare cu o sensibilitate crescută (2). Imunodozajele specifice pentru E. histolytica, precum testul E. HISTOLYTICA QUIK CHEK, oferă beneficii suplimentare de a identifica numai infecțiile cu E. histolytica. Poate fi testat un număr mare de probe, rapid și obiectiv, iar procedura presupune un volum de muncă mai mic, comparativ cu majoritatea celorlalte metode de diagnosticare.

PRINCIPIUL TESTULUI

Testul E. HISTOLYTICA QUIK CHEK utilizează anticorpi specifici pentru E. histolytica. Dispozitivul Membrană conține o Fereastră de reacție cu două linii verticale de anticorpi imobilizați. Linia de test („T”) conține anticorpi monoclonali specifici pentru adevina E. histolytica. Linia de control („C”) conține anticorpi cu peroxidază din hrean (HRP). Conjugatul constă din anticorpi anti-E. histolytica cuplați cu peroxidază din hrean. Pentru a efectua testul, mostra este introdusă într-o eprubetă care conține un amestec de Diluant și Conjugat. Amestecul diluat de mostră-conjugat este adăugat în *Baia de mostre* și dispozitivul este incubat la temperatura camerei timp de 15 minute. Pe parcursul incubării, toate adevinele E. histolytica din mostră se leagă de anticorpii conjugăți cu peroxidază. Amestecurile antigeni-anticorpi-peroxidază migrează printr-un filtru pe o membrană unde sunt capturate de către anticorpii anti-adevină imobilizați din aceste linii. Fereastra de reacție este apoi spălată cu o Soluție tampon de spălare, după care se adaugă un Substrat. După o perioadă de incubație de 10 minute, Fereastra de reacție este examinată vizual pentru a se depista apariția liniilor albastre verticale pe laturile „C” și „T” ale Fereștii de reacție. O linie albastră pe latura „T” a Fereștii de reacție indică un rezultat pozitiv. O reacție pozitivă „C” indicată printr-o linie albastră verticală pe latura „C” a Fereștii de reacție, monitorizează/confirmă că mostra și reactivii au fost adăugați corect, că substanțele reactive erau active în momentul efectuării evaluării și că mostra a migrat în mod adecvat prin Dispozitivul membrană. De asemenea, se confirmă și reactivitatea celorlalte substanțe reactive din cadrul evaluării.

MATERIALE FURNIZATE

MEM DEV

Dispozitive membrană – fiecare săculeț conține 1 dispozitiv

CONJ ENZ

Conjugat (2 ml) – anticorp specific pentru E. histolytica cuplat cu peroxidază din hrean într-o soluție tampon de proteine

DIL SPE

Diluant (16 ml) – soluție tampon cu proteine, cu pipetă gradată neagră

CONTROL +

Control pozitiv (1 ml) – antigen E. histolytica într-o soluție tampon cu proteine

SUBS REAG

Substrat (3,5 ml) – soluție care conține tetrametilbenzidină

WASH REAG

Soluție tampon de spălare (12 ml) – soluție tampon cu pipetă gradată albă

Pipete de plastic de unică folosință (50) – gradate la 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl și 500 µl

MD

Dispozitiv medical de diagnosticare *in vitro*

MATERIALE ȘI ECHIPAMENT NECESAR, ÎNSĂ NEFURNIZATE

Eprubete mici de test (de exemplu, eprubete din plastic cu microcentrifuge)

Aplicatoare din lemn

Mănuși de unică folosință

Dispozitiv de pipetare și vârfuri

Cronometru

PERIOADA DE VALABILITATE ȘI DEPOZITAREA

Data de expirare a kitului este imprimată pe eticheta de pe ambalajul kitului. A se depozita între 2 °C și 8°C. Kitul trebuie pus înapoi în frigider cât mai rapid după utilizare.

PRECAUȚII

- La primire, verificați kitul pentru a vă asigura că elementele componente nu sunt înghețate sau calde la atingere din cauza condițiilor inadecvate de transport și că nu prezintă semne de scurgeri.
- Aduceți toate componentele la temperatura camerei înainte de utilizare, pentru a asigura reactivitatea corectă a kitului.
- Reactivul Substrat trebuie să fie incolor. Dacă reactivul Substrat se transformă în albastru închis/violet, eliminați-l și contactați Serviciul tehnic pentru a-l înlocui.
- Reactivii din kituri diferite nu trebuie amestecați sau interschimbați. Nu utilizați kitul după data de expirare.
- Capacele, vârfurile și pipeta sunt codate cromatic; NU amestecați sau interschimbați!
- Utilizați probele coprologice în termen de 72 de ore de la prelevare pentru a obține rezultate optime. Probele congelate își pot pierde reactivitatea din cauza congelării și decongelării.
- Testul a fost optimizat pentru sensibilitate și specificitate. Alterarea procedurii specificate și/sau a condițiilor de testare pot să afecteze sensibilitatea și specificitatea testului. Nu deviați de la procedura specificată.

- Probele coprologice și dispozitivele membrană folosite pot conține agenți cu potențial patogen și trebuie manevrate la nivelul „Securitate biologică Clasa 2”, conform recomandărilor manualului CDC/NIH „Siguranța biologică în laboratoarele de analize medicale și microbiologice.” Purtați mănuși de unică folosință atunci când realizați testul.
- Se utilizează pentru diagnosticarea *in vitro*.

PRELEVAREA, MANEVRAREA ȘI DEPOZITAREA PROBELOR COPROLOGICE

Tipuri de mostre acceptabile
Probe coprologice proaspete
Probe coprologice congelate (congelate nediluate)

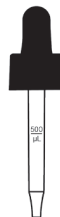
Nu utilizați
Probe coprologice în fixator pe bază de formol (de exemplu, formol acetat de sodiu, 10% formol)
Probe coprologice în fixator pe bază de alcool (de exemplu, alcool polivinilic)
Probe coprologice în medii de transportare (de exemplu, Cary Blair)

- Utilizați procedurile standard interne de prelevare și manevrare a probelor coprologice. Prelevați probele coprologice în recipiente curate, protejate împotriva scurgerilor.
- Depozitați probele coprologice proaspete la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C până la 72 de ore. Dacă testul nu poate fi efectuat în termen de 72 de ore de la prelevare, congelați probele și depozitați-le la o temperatură ≤ -10°C. Dacă este posibil, mostrele de testare trebuie să aibă mai puțin de 24 de ore.
- Evitați ciclurile congelare/decongelare. Dacă utilizați probe congelate, decongelați la temperatura camerei.
- Nu depozitați probele coprologice în *Diluant*.

PROCEDURA DE TESTARE

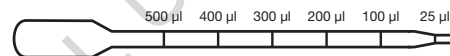
- Fiți atenți la timpul total al evaluării atunci când testați mai multe probe coprologice.
- Înainte de utilizare, aduceți toți reactivii la temperatura camerei. Scoateți reactivii din inserția din spumă pentru a reduce timpul necesar încălzirii la temperatura camerei.
- Pregătiți și etichetați o eprubetă mică de testare pentru fiecare probă și fiecare control extern opțional.**
- Adăugați 500 µl de *Diluant* în fiecare eprubetă, utilizând pipeta gradată neagră.**

Tip de probă	Volum de <i>Diluant</i>
Probe coprologice proaspete	500 µl
Probe coprologice congelate (congelate nediluate)	500 µl



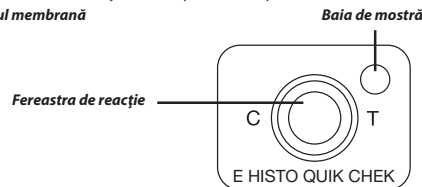
- Adăugați o picătură de *Conjugat* (flaconul cu capac roșu) în fiecare eprubetă.** Țineți pipeta vertical pentru ca picăturile să aibă dimensiunea corectă. *Diluantul* și *Conjugatul* trebuie adăugate în toate eprubetele înainte de introducerea probelor.
- Luați o pipetă de transfer din plastic de unică folosință (furnizată împreună cu kitul) pentru fiecare probă.

Pipetă gradată de transfer:



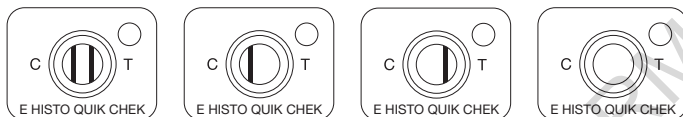
- Pentru probe lichide/semi-solide** - amestecați bine proba. Cu ajutorul unei pipete de transfer, introduceți 25 µl din probă în amestecul de *Diluant/Conjugat* din eprubetă.
Pentru probe formate/solide - amestecați bine, folosind un aplicator din lemn, și transferați o parte mică (cu diametrul de aproximativ 2 mm, echivalentul a 25 µl) din probă în amestecul de *Diluant/Conjugat*. Emulsionați proba folosind aplicatorul din lemn.
NOTĂ: Transferarea unei cantități prea mici de probă, amestecarea inadecvată sau suspensia incompletă a probei în amestecul de Diluant/Conjugat poate duce la un rezultat fals-negativ. Adăugarea unei cantități prea mari de probe poate duce la rezultate nevalide din cauza debitului restricționat.
- Controale externe opționale:**
Control extern pozitiv - adăugați o picătură de ser de *Control pozitiv* (flaconul cu capac gri) în eprubeta de testare adecvată.
Control extern negativ - adăugați 25 µl de *Diluant* în eprubeta de testare adecvată.
- Pentru toate probele de testare și de control, închideți eprubetele și amestecați bine, utilizând un mixer de omogenizare sau răsturnând de câteva ori eprubeta. Probele sau controalele diluate în amestecul de *Diluant/Conjugat* pot fi incubate la temperatura camerei pentru o perioadă de până la 2 ore înainte de a le introduce în *Dispozitivul membrană*.
- Deschideți un săculeț cu *Dispozitiv membrană* adus la temperatura camerei pentru fiecare probă și control extern diluat (după necesități). Etichetați adecvat fiecare dispozitiv și așezați-l pe o suprafață plată în așa fel încât eticheta „E HISTO QUIK CHEK” să fie în partea inferioară a dispozitivului, iar „Baia de mostră” mică să se afle în colțul din dreapta sus al dispozitivului.

Dispozitivul membrană



11. Asigurați-vă că toate probele diluate sunt amestecate bine (consultați pasul 9) înainte de a le introduce în *Dispozitivul membrană*. Cu ajutorul unei pipete de transfer noi, transferați 500 µl (ultima gradată de sus) din fiecare eprubetă în *Baia de mostră* (cel mai mic orificiu din colțul din dreapta sus al dispozitivului) a *Dispozitivului membrană*. Când adăugați proba în *Baia de mostră*, asigurați-vă că vârful pipetei de transfer se află în interiorul orificiului *Băii de mostră* și că este îndreptat către *Fereastra de reacție*. Scoateți proba diluată de pe fitilul absorbant din interiorul *Dispozitivului membrană*.
12. **Incubați dispozitivul la temperatura camerei timp de 15 minute** – proba se va distribui în dispozitiv și zona umedă se va răspândi pe *Fereastra de reacție*. Pasul de incubare de 15 minute începe după transferarea ultimei mostre de amestec conjugat pe ultimul *Dispozitiv membrană*.
REȚINEȚI PENTRU PROBELE CARE NU MIGREAZĂ:
Ocazional, unele probe coprologice diluate nu migrează adecvat, iar *Fereastra de reacție* nu este complet umezită. Dacă *Fereastra de reacție* nu pare să fie complet umezită în 5 minute de la adăugarea probei în *Baia de mostră*, adăugați 100 µl (4 picături) de Diluant în *Baia de mostră* și așteptați încă 5 minute (20 de minute în total). Continuați cu pasul următor al Procedurii de testare.
13. **După incubare, adăugați 300 µl de Soluție tampon de spălare în Fereastra centrală de reacție cu ajutorul pipetei gradate albe.** Permiteți absorbirea completă a Soluției tampon de spălare.
14. **Adăugați 2 picături de soluție Substrat (flaconul cu capac alb) în Fereastra de reacție centrală.**
15. Incubați 10 minute la temperatura camerei. După incubare, citiți vizual și înregistrați rezultatele.

INTERPRETAREA REZULTATELOR



Resultat pozitiv

Resultat negativ

Resultat nevalid

Resultat nevalid

NOTĂ: Controlarele externe sunt concepute numai pentru monitorizarea erorilor sistematice generale. Dacă rezultatele așteptate nu se observă pe serul de Control pozitiv și negativ, poate fi un indiciu că serurile de control în sine nu funcționează corect.

1. Interpretarea testului este cea mai sigură atunci când dispozitivul este citit imediat după perioada de reacție, într-o zonă bine iluminată și direct pe dispozitiv, la o distanță normală.
2. **Resultat pozitiv:** Sunt vizibile două linii albastre, linia de control de pe latura „C” (stângă) a *Ferestrei de reacție* și linia de testare de pe latura „T” (dreaptă) a *Ferestrei de reacție*. Acest linii pot să aibă o intensitate mică sau mare – orice linie de pe latura „T” este considerată pozitivă. Decolorarea membranei nu se va interpreta ca rezultat pozitiv. Resultatul pozitiv indică prezența antigenului *E. histolytica*, precum și faptul că există o linie de control adecvată reactivă pozitivă.
3. **Resultat negativ:** Este vizibilă o singură linie albastră verticală pe latura „C” (stângă) a *Ferestrei de reacție* și nu este vizibilă nicio linie de testare pe latura „T” a *Ferestrei de reacție*. Un rezultat negativ indică faptul că antigenul *E. histolytica* este absent din probă sau se află sub limita de detecție a testului, precum și faptul că există o linie de control adecvată reactivă pozitivă.

4. **Resultat nevalid:** Este vizibilă o singură linie pe latura „T” a *Ferestrei de reacție* sau nu este vizibilă nicio linie pe *Fereastra de reacție*. Testul nu este valid dacă nu este prezentă nicio linie de control după finalizarea reacției de testare.

CONTROLUL CALITĂȚII

Validitatea rezultatelor testului efectuat cu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* depinde de reacția adecvată a controlarelor interne și externe.

Intern: O linie de control albastră verticală trebuie să fie vizibilă pe latura „C” a *Ferestrei de reacție* de pe fiecare *Dispozitiv membrană* care este supus testului. Această reprezintă confirmarea că s-au adăugat corect proba și reactivii și că au reacționat în mod adecvat în cadrul evaluării. Fundalul gol în zona de rezultat este considerat un control intern negativ. Culoarea poate varia de la alb la albastru deschis și toate liniile dezvoltate vor fi vizibile clar.

Extern: Reactivitatea testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* trebuie verificată la primire folosind serul de Control pozitiv și controlul negativ (*Diluant*). Controlul pozitiv confirmă reactivitatea celorlalte substanțe reactive asociate cu evaluarea și este menit să asigure precizia evaluării analitice. Se pot efectua teste adiționale cu substanțele de control pentru a îndeplini cerințele la nivel local, de stat și/sau federale și/sau ale organizațiilor de acreditare.

LIMITĂRI

1. Un rezultat negativ al testului nu exclude posibilitatea prezenței adevăratei *E. histolytica* în probă, care poate apărea dacă nivelul de antigen se află sub limita de detecție a testului.
2. Testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* este calitativ. Intensitatea culorii nu se va interpreta cantitativ.

VALORI AȘTEPTATE

Persoanele normale sănătoase nu sunt infectate cu *E. histolytica* și ar trebui să aibă rezultate negative la testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Un rezultat pozitiv al testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* indică faptul că persoana respectivă elimină cantități detectabile de antigen *E. histolytica*. Apariția infecției cu *E. histolytica* variază semnificativ în funcție de tipul de populație și regiunile geografice. Se estimează că *Entamoeba histolytica* infectează aproximativ 50 de milioane de persoane din întreaga lume (2). Aproape 90% dintre acestea nu prezintă simptome, în timp ce 10% dezvoltă simptome clinice care variază de la boli gastrointestinale până la abcese hepatice. Grupurile cu risc ridicat includ persoane care trebuie să călătorească în străinătate, imigranți, persoane imunocompromise, lucrători itineranți și homosexuali activi de sex masculin (2, 3). Tulpinile nepatogene (*E. dispar*) sunt predominante în rândul homosexualilor de sex masculin (4). Boala este transmisă adesea prin transmitători asimptomatici ai *E. histolytica*.

CARACTERISTICILE PERFORMANȚEI

Performanța testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* a fost comparată cu testul *E. HISTOLYTICA II* și cu testul Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* cu probe discrepante rezolvate prin metoda PCR. Probele coprologice au inclus 449 de mostre congelate. Informațiile privitoare la vârsta pacienților au fost disponibile pentru 350 de pacienți. Din cei 350 de pacienți, 87% au fost < 18 ani. Informațiile privitoare la sex au fost disponibile pentru 424 de pacienți, dintre care 46% au fost bărbați și 54% au fost femei. Tabelul 1 prezintă un rezumat al efectuării testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* la toate cele 3 locații.

Tabelul 1. Rezumat al performanței clinice comparative a testului E. HISTOLYTICA QUIK CHEK față de testul E. HISTOLYTICA II și față de testul Remel™ ProSpec™ Entamoeba histolytica.

nr. = 449	E. HISTOLYTICA II pozitiv	E. HISTOLYTICA II negativ
E. HISTOLYTICA QUIK CHEK pozitiv	94	3
E. HISTOLYTICA QUIK CHEK negativ	3	349

		Interval de încredere de 95%
Rată de concordanță pozitivă	96,9%	90,6% – 99,2%
Rată de concordanță negativă	99,1%	97,3% – 99,8%
Rată de concordanță absolută	98,7%	98,5% – 98,9%
*Rezolvate prin PCR – rată de concordanță absolută	99,6%	99,6% – 99,6%

nr. = 449	ProSpec™ E. histolytica pozitiv	ProSpec™ E. histolytica negativ
E. HISTOLYTICA QUIK CHEK pozitiv	87	10
E. HISTOLYTICA QUIK CHEK negativ	24	328

		Interval de încredere de 95%
Rată de concordanță pozitivă	78,4%	69,4% – 85,4%
Rată de concordanță negativă	97,0%	94,5% – 98,5%
Rată de concordanță absolută	92,4%	91,0% – 93,6%
*Rezolvate prin PCR – rată de concordanță absolută	99,3%	99,2% – 99,4%

*Cele 40 de probe discrepante au fost rezolvate prin amplificarea purificării ADN din probele coprologice și a reacției de polimerizare în lanț (PCR) pentru *E. histolytica*, *E. dispar* și *E. moshkovskii*.

Pentru cele 6 mostre discrepante dintre *E. HISTOLYTICA II* și *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: cele 3 mostre pozitive pentru *E. HISTOLYTICA II* și negative pentru *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* au inclus 2 *E. histolytica* pozitive PCR și 1 *E. histolytica* negativă PCR. Cele 3 mostre negative pentru *E. HISTOLYTICA II* și pozitive pentru *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* au fost pozitive PCR pentru *E. histolytica*.

Pentru cele 34 de mostre discrepante dintre testul Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* și testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: cele 24 de mostre pozitive conform Remel™ ProSpec™ și negative conform *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* au inclus 3 *E. histolytica* pozitive PCR, 13 *E. dispar* pozitive PCR și 8 *Entamoeba* negative PCR. Cele 10 mostre negative conform Remel™ ProSpec™ și pozitive conform *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* au fost *E. histolytica* pozitive PCR.

REPRODUCIBILITATE

Reproducibilitatea testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* a fost determinată utilizând 12 probe coprologice care au fost codificate pentru a se împiedica identificarea lor în timpul testării. Testarea a fost efectuată la 2 laboratoare independente și intern la TECHLAB®, Inc. Probele au fost testate de două ori pe zi pentru o perioadă de 5 zile de către mai mulți tehnicieni de la fiecare unitate, utilizându-se 2 loturi diferite ale kitului de testare. Pe fiecare lot de probe mascate a fost efectuat un control pozitiv și unul negativ. Rezultatele de la fiecare laborator au fost trimise la TECHLAB®, Inc. și s-au comparat cu rezultatele testelor interne. Rezultatele au fost consecvente între diferitele locații și au prezentat o corelare de 100%. Mostrele au dat rezultatele așteptate în 100% din încercări.

REACTIVITATE ÎNCRUCIȘATĂ

Testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* a fost evaluat pentru reactivitate încrucișată cu tulpinile bacteriene și virale enumerate mai jos. Niciuna dintre tulpini nu a prezentat interferențe cu performanța testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*.

Aeromonas hydrophila

Bacillus cereus

Bacillus subtilis

Bacteroides fragilis

Campylobacter coli

Campylobacter fetus

Campylobacter jejuni

Candida albicans

Clostridium bifermentans

Clostridium difficile

Enterococcus faecalis

Escherichia coli

Escherichia coli O157:H7

Escherichia coli ETEC

Escherichia coli EPEC

Escherichia coli EIEC

Klebsiella pneumoniae

Salmonella typhimurium

Shigella dysenteriae

Shigella flexneri

Shigella sonnei

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus (Cowan)

Staphylococcus epidermidis

Vibrio parahaemolyticus

Yersinia enterocolitica

Adenovirus 2, 5, 40, 41

Coxsackie virus B5

Echovirus 11, 18, 22, 33

Enterovirus 68, 69

Adenovirus uman 1, 3

Coronavirus uman

Coxsackie virus uman B2, B3, B4

Echovirus uman 9

Enterovirus uman 69, 70, 71

Parechovirus uman 1

[Echovirus 22]

Rotavirus uman

În plus, testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* a fost efectuat pe probe coprologice documentate ca fiind pozitive prin microscopie pentru alți paraziți. Nu s-a observat nicio reactivitate încrucișată între organismele următoare.

Entamoeba coli

Entamoeba dispar

Entamoeba moshkovskii

Ouă de *Ascaris lumbricoides*

Blastocystis hominis

Chilomastix mesnili

Spacia Cyclospora

Endolimax nana

Spacia Giardia

Hymenolepis nana

Ouă de vierme cârlig

Iodamoeba bütschlii

Trichomonas hominis

Ouă de *Trichuris trichiura*

SUBSTANȚE INTERFERENTE (FORMULARE S.U.A.)

Substanțele următoare nu au avut niciun efect asupra rezultatelor pozitive sau negative ale testelor analizate în concentrațiile indicate: mucină gastrică de porc (3,5% w/v), sânge uman (40% v/v), hidroclortizon (40% v/v), sulfat de bariu (5% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-bismol® (5% v/v), Maalox® Advanced (5% v/v), acid steric (40% w/v), acid palmitic (40% w/v), metronidazol (0,25% w/v), fenilefrină (40% w/v), naproxen sodium (40% w/v), nonoxynol-9 (40% v/v), vancomicină (0,25% w/v), Priolsec OTC® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), Tagamet® (5 µg/ml), ciprofloxacina (0,25% w/v), Mylanta® (4,2 mg/ml) și urină umană (5% v/v).

PRECIZIE – INTRA-TESTE

Pentru determinarea performanței intra-teste, au fost analizate douăsprezece probe coprologice umane cu ajutorul testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Din cele douăsprezece mostre, șase au fost pozitive pentru *E. histolytica* la diverse niveluri (scăzut, moderat și crescut) și șase au fost negative pentru *E. histolytica*. Fiecare mostră a fost evaluată de cinci ori în cadrul efectuării aceluiași test, utilizându-se două loturi diferite ale kitului de testare. S-au efectuat un control pozitiv și unul negativ pentru fiecare lot. Toate mostrele pozitive au rămas pozitive și cele negative au rămas negative.

PRECIZIE – INTER-TESTE

Pentru determinarea performanței inter-teste, au fost analizate douăsprezece probe coprologice umane cu ajutorul testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Din cele douăsprezece mostre, șase au fost pozitive pentru *E. histolytica* la diverse niveluri (scăzut, moderat și crescut) și șase au fost negative pentru *E. histolytica*. Probele au fost testate de două ori pe zi de mai mulți tehnicieni pe o perioadă de 12 zile, utilizându-se două loturi diferite ale kitului de testare. S-au efectuat zilnic un control pozitiv și unul negativ pentru fiecare lot. Toate mostrele pozitive au rămas pozitive și cele negative au rămas negative.

SENSIBILITATE ANALITICĂ

Limita de detectare (LoD) a testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* a fost stabilită la concentrația de 0,2 ng/ml pentru adezina *E. histolytica*.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O teste TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ é um ensaio imunoenzimático rápido de membrana para a detecção qualitativa de adesinas de *Entamoeba histolytica* em cassette de utilização única. Tem utilização prevista com amostras fecais humanas de pacientes com diarreia e disenteria como ajuda no diagnóstico de infecção gastrointestinal *E. histolytica*. Os resultados dos testes devem ser considerados em conjunto com o histórico do paciente.

EXPLICAÇÃO

Entamoeba histolytica e *Entamoeba dispar* são parasitas intestinais que infetam aproximadamente meio bilhão de pessoas em todo o mundo a cada ano (1). É necessário distinguir entre duas espécies porque a *E. histolytica* é patogénica, causando amebíase intestinal (por ex. diarreia, disenteria, colite) e amebíase extra-intestinal (por ex. abscesso do fígado). *E. dispar* não está associada com doença sintomática e o diagnóstico impreciso pode resultar em tratamento desnecessário. O método mais comum utilizado para diagnosticar a amebíase foi a microscopia de esfregaço, que sofre de baixa sensibilidade e especificidade. Trofozoítos e quistos não são facilmente identificados numa única amostra fecal e é difícil de distinguir visualmente entre *E. dispar* e *E. histolytica* quando são observados. A detecção da *Entamoeba* spp. por imunoensaio fornece um método alternativo de diagnóstico com maior sensibilidade (2). Imunoensaios específicos para *E. histolytica*, como o teste E. HISTOLYTICA QUIK CHEK, fornecem o benefício adicionado de apenas identificar infecções *E. histolytica*. É possível testar de forma rápida e objetiva grandes quantidades de amostras e o procedimento é menos trabalhoso do que a maior parte dos métodos de diagnóstico.

PRINCÍPIO DO TESTE

O teste E. HISTOLYTICA QUIK CHEK utiliza anticorpos específicos para *E. histolytica*. O Dispositivo da Membrana contém uma Janela de Reação com duas linhas verticais de anticorpos imobilizados. A linha de teste ("T") contém anticorpos monoclonais específicos para *E. histolytica* adhesin. A linha de controlo ("C") contém anticorpos para peroxidase de rábano (HRP). O Conjugado consiste em anticorpos de *E. histolytica* juntados a peroxidase de rábano. Para executar o teste, a amostra é adicionada a um tubo contendo uma mistura de Diluente e Conjugado. A mistura de amostra-conjugado diluída é adicionada ao Poço de Amostras e o dispositivo incuba à temperatura ambiente durante 15 minutos. Durante a incubação, qualquer *E. histolytica* adhesin na amostra liga-se ao conjugado de anticorpo-peroxidase. Os complexos antígeno-anticorpo-peroxidase migram através de uma almofada de filtro para uma membrana onde são capturados pelos anticorpos anti-adhesin imobilizados na linha. A Janela de Reação é posteriormente lavada com um Tampão de Lavagem, seguido pela adição de Substrato. Após um período de incubação de 10 minutos, a Janela de Reação é examinada visualmente para analisar o aspeto das linhas azuis verticais nos lados "C" e "T" da Janela de Reação. A linha azul do lado "T" da Janela de Reação indica um resultado positivo. Uma reação "C" positiva, indicada por uma linha vertical azul no lado "C" da Janela de Reação, controla/confirma que a amostra e os reagentes foram adicionados corretamente, os reagentes estavam ativos no momento de executar o ensaio, e que a amostra migrou devidamente através do Dispositivo da Membrana. Também confirma a reatividade dos outros reagentes associados ao ensaio.

MATERIAIS FORNECIDOS

MEM DEV

Dispositivos de membrana – Cada saqueta contém 1 dispositivo

CONJ ENZ

Conjugado (2 ml) – Anticorpo específico para *E. histolytica* ligado a peroxidase de rábano numa solução de proteína tamponizada

DIL SPE

Diluente (16 ml) – Solução de proteína tamponizada com conjunto de conta-gotas graduado

CONTROL +

Controlo positivo (1 ml) – antígeno *E. histolytica* numa solução de proteínas tamponizada

SUBS REAG

Substrato (3,5 ml) – Solução contendo tetrametilbenzidina

WASH REAG

Tampão de lavagem (12 ml) – Solução tamponizada com conjunto de conta-gotas graduado

Pipetas de plástico descartáveis (50) – Graduado a 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL, e 500 µL

IVD

Dispositivo Médico de Diagnóstico In Vitro

MATERIAIS E EQUIPAMENTO NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

Tubos de teste pequenos (por ex., tubos microcentrífugos de plástico)

Sticks de Aplicação em Madeira

Luvas descartáveis

Pipeta e pontas

Temporizador

VALIDADE E ARMAZENAMENTO

A data de validade do kit está indicada no rótulo da caixa do kit. Armazene o kit entre 2 °C e 8 °C. Volte a colocar o kit no frigorífico o mais depressa possível após a utilização.

PRECAUÇÕES

- Na chegada, inspecione o kit para garantir que os componentes não estão congelados ou quentes ao toque devido a condições de transporte inadequadas e que não existem sinais de fuga.
- Coloque todos os componentes à temperatura ambiente antes de utilizar para assegurar a reatividade adequada do kit.
- O reagente do Substrato deve ser incolor. Se o reagente do Substrato mudar para uma cor azul escura/violeta, elimine e ligue para os serviços técnicos pedindo a substituição.
- Reagentes de kits diferentes não devem ser misturados ou trocados. Não utilize um kit após a data de validade.
- Os conjuntos de tampas, pontas e conta-gotas estão codificados por cores; NÃO misture nem troque!

- Utilize amostras fecais no espaço de 72 horas após a coleta para obter resultados ideais. As amostras que são congeladas podem perder reatividade devido ao congelamento e descongelamento.
- O teste foi otimizado quanto à sensibilidade e à especificidade. As alterações ao procedimento especificado e/ou às condições de teste podem afetar a sensibilidade e a especificidade do teste. Não se desvie do procedimento especificado.
- As amostras fecais e dispositivos de membrana utilizados podem conter agentes potencialmente infecciosos e devem ser manuseados segundo o "Nível 2 de Biossegurança" conforme recomendado no Manual CDC/NIH "Biossegurança nos Laboratórios Microbiológicos e Biomédicos." Use luvas descartáveis quando fizer o teste.
- Para utilização de diagnóstico *in vitro*.

RECOLHA, MANIPULAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS FCAIS

Tipos de Amostras Aceitáveis
Amostras Fcais Frescas
Amostras Fcais Congeladas (congeladas não-diluídas)

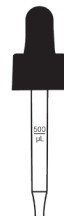
Não Utilizar
Amostras fecais em fixador à base de Formol (por ex. acetato de sódio formol, 10 % formol)
Amostras fecais em fixador à base de Formol (por ex. álcool polivinílico)
Amostras fecais em meios de transporte (por ex. Cary Blair)

- Utilize procedimentos de coleta e manuseamento internos padrão para amostras fecais. Coleta amostras fecais em recipientes limpos e à prova de fugas.
- Armazene as amostras fecais frescas entre 2 °C e 8 °C até 72 horas. Congele as amostras e armazene a ≤ -10 °C se não conseguir executar os testes num período de 72 horas após a coleta. Teste as amostras que tenham menos de 24 horas, sempre que possível.
- Devem evitar-se os ciclos de congelamento/descongelamento repetidos. Se utilizar amostras congeladas, descongele-as à temperatura ambiente.
- Não armazene as amostras fecais no *Diluyente*.

PROCEDIMENTO DE TESTE

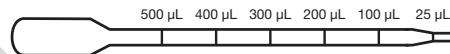
- Esteja atento ao tempo total do ensaio quando testar mais de uma amostra fecal.
- Coloque todos os reagentes e dispositivos à temperatura ambiente antes de utilizar. Recomenda-se retirar os reagentes da camada de espuma para reduzir o tempo necessário para aquecer até à temperatura ambiente.
- Prepare e rotule um pequeno tubo de ensaio para cada amostra e os controles externos opcionais.
- Adicione 500µL de *Diluyente* a cada tubo utilizando o conjunto de conta-gotas graduado.

Tipo de Amostra	VOLUME de <i>Diluyente</i>
Amostras Fcais Frescas	500 µL
Amostras Fcais Congeladas (congeladas não-diluídas)	500 µL



- Adicione uma gota de *Conjugado* (frasco com tampa vermelha) a cada tubo. Segure o frasco conta-gotas verticalmente para assegurar um tamanho de gotas adequado. O *Diluyente* e o *Conjugado* devem adicionar-se a todos os tubos antes de adicionar as amostras.
- Obtenha uma pipeta de transferência de plástico descartável (fornecida com o kit) para cada amostra.

Pipeta de Transferência Graduada:



- Para Amostras Líquidas/Semi-Sólidas** – Misture a amostra cuidadosamente. Utilizando a pipeta de transferência, adicione 25 µL de amostra à mistura de *Diluyente/Conjugado* no tubo.

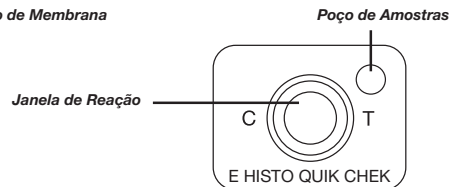
Para amostras formadas/sólidas – Misture a amostra cuidadosamente utilizando um stick de aplicação de madeira e transfira uma pequena porção (cerca de 2 mm de diâmetro, o equivalente a 25 µl) da amostra para a mistura *Diluyente/Conjugado*. Emulsione a amostra utilizando o stick de aplicação.

NOTA: transferir muito pouca amostra, ou falhar na mistura e suspensão completa da amostra na mistura de *Diluyente/Conjugado*, pode produzir um resultado de teste falso negativo. A adição de amostra fecal em excesso pode causar resultados inválidos devido ao fluxo de amostra limitado.
- Controles Externos Opcionais:**

Controlo Positivo Externo - adicione uma gota de *Controlo Positivo* (frasco com tampa cinzenta) ao tubo de teste adequado.

Controlo Negativo Externo - adicione 25 µL de *Diluyente* ao tubo de teste adequado.
- Para todas as amostras de teste e controlo, feche os tubos e misture cuidadosamente utilizando um misturador de vórtice invertendo o tubo várias vezes. As amostras ou controlos diluídos na mistura de *Diluyente/Conjugado* podem incubar-se à temperatura ambiente até 2 horas antes de adicionar ao *Dispositivo de Membrana*.
- Abra uma saqueta de *Dispositivo de Membrana* à temperatura ambiente para cada amostra diluída e controlo externo (conforme necessário). Rotule cada dispositivo adequadamente e oriente-o numa superfície plana de forma a que a impressão "E HISTO QUIK CHEK" esteja na parte inferior do dispositivo, e o *Poço de Amostras* pequeno esteja localizado no canto superior direito do dispositivo.

Dispositivo de Membrana



11. Certifique-se de que cada amostra diluída é cuidadosamente misturada (Ver Passo 9) antes de adicionar ao *Dispositivo de Membrana*. Utilizando uma nova pipeta de transferência, transfira 500 µL (maior graduação) a partir de cada tubo para o **Poço de Amostras** (orifício mais pequeno no canto superior direito do dispositivo) de um **Dispositivo de Membrana**. Quando adicionar a amostra no **Poço de Amostras**, certifique-se de que a ponta da pipeta de transferência está dentro do orifício do **Poço de Amostras** e oblíqua em relação à **Janela de Reação**. Expulse a amostra diluída na almofada de drenagem dentro do *Dispositivo de Membrana*.
12. Incube o dispositivo à temperatura ambiente durante 15 minutos – a amostra penetrará através do dispositivo e uma área húmida espalhar-se-á ao longo da **Janela de Reação**. A etapa de incubação de 15 minutos começa após a última mistura amostra-conjugado diluída ter sido transferida para o último *Dispositivo de Membrana*.
NOTA PARA AMOSTRAS QUE NÃO MIGRAM:
Ocasionalmente, uma amostra diluída não migra corretamente e a **Janela de Reação** não se molha totalmente. Se a **Janela de Reação** não parecer estar completamente molhada no espaço de 5 minutos após a adição da amostra ao **Poço de Amostras**, então adicione 100 µL (4 gotas) de **Diluyente** ao **Poço de Amostras** e espere mais 5 minutos (num total de 20 minutos). Continue com o passo seguinte do Procedimento de Teste.
13. Após a incubação, adicione 300 µL de **Tampão de Lavagem** à **Janela de Reação** central utilizando o conjunto do conta-gotas branco graduado. Permita que o **Tampão de Lavagem** seja absorvido totalmente.
14. Adicione 2 gotas de **Substrato** (frasco com tampa branca) à **Janela de Reação** central.
15. Incube 10 minutos à temperatura ambiente. Leia e registre os resultados visualmente após a incubação.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS



Resultado Positivo



Resultado Negativo



Resultado Inválido



Resultado Inválido

NOTA: os *Controlos Externos* servem para controlar apenas os erros sistemáticos grosseiros. Se não se observarem os resultados esperados com os *Controlos positivos* e *negativos*, isto pode indicar que os próprios controlos não estão a funcionar corretamente.

1. A interpretação do teste é mais fiável quando o dispositivo é lido imediatamente no final da reação, numa área bem iluminada e a partir de diretamente acima do dispositivo a uma distância de trabalho normal.
2. **Resultado Positivo:** duas linhas azuis verticais são visíveis, a linha de controlo do lado “C” (esquerdo) da **Janela de Reação** e a linha de teste do lado “T” (direito) da **Janela de Reação**. As linhas podem aparecer com uma intensidade tênue a escura - qualquer linha do lado “T” é considerada positiva. Não interprete a descoloração da membrana como um resultado positivo. Um resultado positivo indica a presença do antígeno *E. histolytica* e que existe uma linha de controlo positiva devidamente reativa.
3. **Resultado Negativo:** uma linha azul vertical única está visível no lado “C” (esquerdo) da **Janela de Reação** e nenhuma linha de teste está visível no lado “T” da **Janela de Reação**. Um resultado negativo indica que o antígeno *E. histolytica* está ausente da amostra ou está abaixo do limite de deteção do teste e que existe uma linha de controlo positivo devidamente reativa.
4. **Resultado Inválido:** uma linha única é visível no lado “T” da **Janela de Reação**, ou nenhuma linha é visível na **Janela de Reação**. O teste é inválido se uma linha de controlo não estiver presente no final da reação do teste.

CONTROLO DE QUALIDADE

A validade dos resultados do teste utilizando o teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* está dependente da reação adequada dos controlos internos e externos.

Interno: uma linha vertical azul deve estar visível no lado “C” da **Janela de Reação**, em cada *Dispositivo de Membrana* testado. Isto confirma que a amostra e os reagentes foram adicionados corretamente e reagiram devidamente no ensaio. Um fundo claro na área de resultados é considerado um controlo negativo interno. Pode aparecer branco a azul claro e quaisquer linhas desenvolvidas serão claramente visíveis.

Externo: a reatividade do teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* deve ser verificada assim que o receber utilizando o *Controlo Positivo* e o controlo negativo (*Diluyente*). O *Controlo Positivo* confirma a reatividade dos outros reagentes associados ao ensaio e não se destina a assegurar precisão no corte analítico do ensaio. Podem ser realizados testes adicionais com os controlos para cumprir as exigências dos regulamentos locais, estatais e/ou federais e/ou das organizações acreditadas.

LIMITAÇÕES

1. Um resultado de teste negativo não impede a possibilidade da presença de *E. histolytica* adesina na amostra que pode ocorrer se o nível de antígeno estiver abaixo do limite de deteção do teste.
2. O teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* é qualitativo. A intensidade da cor não deve ser interpretada quantitativamente.

VALORES ESPERADOS

Indivíduos saudáveis normais devem estar infetados com *E. histolytica* e devem ter resultado negativo no teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Um resultado do teste positivo no teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* indica que a pessoa está a repelir quantidades detetáveis de antígeno *E. histolytica*. A incidência da infeção *E. histolytica* varia significativamente entre populações e regiões geográficas. Estima-se que *Entamoeba histolytica* infeta 50 milhões de pessoas à volta do mundo (2). Cerca de 90 % destas pessoas permanecem assintomáticas, quando cerca de 10 % desenvolve sintomas clínicos que vão de doença gastrointestinal a abscessos do fígado. Os grupos de alto risco incluem pessoas que viajaram para o estrangeiro, imigrantes, pessoas com imunidade comprometida, trabalhadores migrantes e homens homossexuais ativos (2, 3). Estirpes não patogénicas (*E. dispar*) são predominantes entre homens homossexuais (4). A doença é muitas vezes transmitida por transportadores assintomáticos *E. histolytica*.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

O desempenho do teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* foi comparado com o teste *E. HISTOLYTICA II* e o teste Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* com amostras discrepantes resolvidas por PCR. Amostras fecais incluíram 449 amostras congeladas. Informação de idade disponível para 350 pacientes. Dos 350 pacientes, 87 % tinham menos de 18 anos. Informação de género estava disponível para 424 pacientes e 54 % eram mulheres e 46 % eram homens. A tabela 1 mostra um resumo do desempenho clínico do teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* em todos os 3 locais.

Tabela 1. Resumo do desempenho clínico comparando o teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* com o teste *E. HISTOLYTICA II* e com o teste Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica*.

n = 449	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Positivo	<i>E. HISTOLYTICA II</i> Negativo
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Positivo	94	3
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Negativo	3	349
95 % de Intervalo de Confiança		
Acordo de Percentagem Positiva	96,9 %	90,6 % - 99,2 %
Acordo de Percentagem Negativa	99,1 %	97,3 % - 99,8 %
Acordo de Percentagem Geral	98,7 %	98,5 % - 98,9 %
*Resolvido por PCR – Acordo de Percentagem Geral	99,6 %	99,6 % - 99,6 %

n = 449	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Positivo	ProSpec™ <i>E. histolytica</i> Negativo
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Positivo	87	10
<i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK</i> Negativo	24	328
95 % de Intervalo de Confiança		
Acordo de Percentagem Positiva	78,4 %	69,4 % - 85,4 %
Acordo de Percentagem Negativa	97,0 %	94,5 % - 98,5 %
Acordo de Percentagem Geral	92,4 %	91,0 % - 93,6 %
*Resolvido por PCR – Acordo de Percentagem Geral	99,3 %	99,2 % - 99,4 %

*As 40 amostras discrepantes foram resolvidas através de purificação de ADN das amostras fecais e amplificação de reação em cadeia de polimerase (PCR) para *E. histolytica*, *E. dispar*, e *E. moshkovskii*.

Para as 6 amostras discrepantes entre *E. HISTOLYTICA II* e *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: as 3 amostras positivas por *E. HISTOLYTICA II* e negativas por *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* incluíram 2 *E. histolytica* PCR positivo e 1 *E. histolytica* PCR negativo. As 3 amostras negativas por *E. HISTOLYTICA II* e positivas por *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* foram *E. histolytica* PCR positivo.

Para as 34 amostras discrepantes entre o teste Remel™ ProSpec™ *Entamoeba histolytica* e *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*: as 24 amostras positivas pelo Remel™ ProSpec™ e negativas pelo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* incluíram 3 *E. histolytica* PCR positivos, 13 *E. dispar* PCR positivos e 8 *Entamoeba* PCR negativos. As 10 amostras negativas por Remel™ ProSpec™ e positivas por *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* foram *E. histolytica* PCR positivo.

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade do teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* foi determinada utilizando 12 amostras fecais que foram codificadas para evitar a sua identificação durante os testes. Os testes foram executados em 2 laboratórios independentes e nas instalações da TECHLAB®, Inc. As amostras foram testadas duas vezes por dia num período de 5 dias por vários técnicos em cada local utilizando 2 lotes de kits diferentes. Um controlo positivo e negativo foi executado com cada painel de amostras mascaradas. Os resultados de cada laboratório foram submetidos à TECHLAB®, Inc. e comparados com os resultados internos. Os resultados foram consistentes nos diferentes locais e mostrada a correlação a 100 %. As amostras produziram os resultados esperados 100 % das vezes.

REATIVIDADE CRUZADA

A reatividade cruzada do teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* foi avaliada com as estirpes bacteriológica e viral listadas abaixo. Nenhuma das estirpes interferem com o desempenho do teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*.

Aeromonas hydrophila
Bacillus cereus
Bacillus subtilis
Bacteroides fragilis
Campylobacter coli
Campylobacter fetus
Campylobacter jejuni
Candida albicans
Clostridium bifermentans

Clostridium difficile
Escherichia coli 0157:H7
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Escherichia coli EIEC
Escherichia coli ETEC
Escherichia coli EPEC
Shigella dysenteriae
Klebsiella pneumoniae

Salmonella typhimurium
Staphylococcus aureus
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Vibrio parahaemolyticus
Staphylococcus aureus (Cowan's)
Staphylococcus epidermidis
Yersinia enterocolitica

Adenovírus, 2, 5, 40, 41
Coxsackievírus B5
Ecovírus 11, 18, 22, 33
Enterovírus 68, 69

Adenovírus Humano 1, 3
Coronavírus Humano
Vírus de Coxsackie Humano
B2, B3, B4

Ecovírus Humano 9
Enterovírus Humano 69, 70, 71
Parecovírus Humano 1 [Ecovírus 22]
Rotavírus Humano

Adicionalmente, o teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* foi executado em amostras fecais documentadas como positivas para outros parasitas por microscopia. Não foi vista qualquer reatividade cruzada nos organismos seguintes.

Entamoeba coli
Entamoeba dispar
Entamoeba moshkovskii
Ovos ascaris lumbricoides
Blastocystis hominis

Chilomastix mesnili
Cyclospora spp.
Endolimax nana
Giardia spp.
Hymenolepis nana

Ovos hookworm
Iodamoeba bütschlii
Trichomonas hominis
Ovos trichuris trichiura

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES (FORMULAÇÃO DOS EUA)

As substâncias seguintes não tiveram efeito nos resultados positivos ou negativos analisados nas concentrações indicadas: mucina gástrica suína (3,5 % w/v), sangue humano (40 % v/v), hidrocortisona (40 % v/v), sulfeto de bário (5 % w/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), Maalox® Advanced (5 % v/v), ácido esteárico (40 % w/v), ácido palmítico (40 % w/v), metronidazol (0,25 % w/v), fenilefrina (40 % w/v), naproxeno sódico (40 % w/v), Nonoxinol-9 (40 % v/v), vancomicina (0,25 % w/v), Prolsec OTC® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), Tagamet® (5 µg/ml), ciprofloxacina (0,25 % w/v), Mylanta® (4,2 mg/ml), e urina humana (5 % v/v).

PRECISÃO – INTRA-ENSAIO

Para a determinação do desempenho intra-ensaio, doze amostras fecais humanas foram analisadas pelo teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Destas doze amostras, seis foram positivas para *E. histolytica* de vários níveis (baixo, moderado e elevado) e seis foram negativas para *E. histolytica*. Cada amostra foi testada cinco vezes na mesma execução de teste, utilizando dois lotes de kits diferentes. Um controle positivo e negativo foi executado para cada painel. Todas as amostras positivas permaneceram positivas e as negativas permaneceram negativas.

PRECISÃO – INTER-ENSAIO

Para a determinação do desempenho inter-ensaio, doze amostras fecais humanas foram analisadas pelo teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*. Destas doze amostras, seis foram positivas para *E. histolytica* de vários níveis (baixo, moderado e elevado) e seis foram negativas para *E. histolytica*. As amostras foram testadas duas vezes por dia por vários técnicos por um período de 12 dias e utilizando 2 lotes de kit diferentes. Um controle positivo e negativo foi executado para cada painel. Todas as amostras positivas permaneceram positivas e as negativas permaneceram negativas.

SENSIBILIDADE ANALÍTICA

O Limite de Detecção (LoD) para o teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK* foi estabelecido na concentração de 0,2 ng/ml para *E. histolytica* adesina.

TECHNICAL SUPPORT

Advice Line

Further information can be obtained from your distributor, or by contacting Alere Technical Support on:

US +	1 877 866 9335	TS.SCR@alere.com
Africa, Russia, CIS	+972 8 9429 683	ARCISproductsupport@alere.com
Asia Pacific	+61 7 3363 7711	APproductsupport@alere.com
Canada	+1 800 818 8335	CANproductsupport@alere.com
Europe & Middle East	+44 161 483 9032	EMEpproductsupport@alere.com
Latin America	+57 01800 094 9393	LApproductsupport@alere.com

REFERENCES / REFERENCIAS / LITERATURHINWEISE / RÉFÉRENCES / LITERATURA / REFERENCER / ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ / REFERENCIÁK / BIBLIOGRAFIA / REFERENTIES / REFERANSER / REFERANSER / REFERANSLAR / REFERINȚE / REFERÊNCIAS

1. Haque, R., K. Kress, S. Wood, T. Jackson, D. Lyerly, T. Wilkins, and W. A. Petri, Jr. 1993. Diagnosis of pathogenic *Entamoeba histolytica* infection using a stool ELISA based on monoclonal antibodies to the galactose-specific adhesin. *J. Infect. Dis.* 167:247-249.
2. Tanyuksel, M. and W.A. Petri, Jr. 2003. Laboratory Diagnosis of Amebiasis. *Clin. Microbiol. Rev.* 16(4):713-729.
3. Krogstad, D. J., H. C. Spencer, G. R. Healy, N. N. Gleason, D. J. Sexton, and C. A. Herron. 1978. Amebiasis: epidemiologic studies in the United States, 1971-1974. *Ann. Intern. Med.* 88:89-97.
4. Tannich, E., and G. D. Burchard. 1991. Differentiation of pathogenic from nonpathogenic *Entamoeba histolytica* by restriction fragment analysis of a single gene amplified *in vitro*. *J. Clin. Microbiol.* 29:250-255.

FOR INFORMATIONAL USE
ONLY

Developed and Manufactured by:



 **TECHLAB®, Inc.**
2001 Kraft Drive
Blacksburg, VA 24060-6358, USA

Distributed by:



Alere North America, LLC
30 South Keller Road
Orlando, Florida 32810
TEL 1-877-441-7440
1-321-441-7200 OUTSIDE USA



Emergo Europe
Molenstraat 15
2513 BH The Hague
The Netherlands



© 2014 TECHLAB®, Inc. All rights reserved.

The Alere Logo and Alere are trademarks of the Alere group of companies.

The *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*, TECHLAB Logo and TECHLAB are trademarks of TECHLAB, Inc., under license.

All trademarks referenced are trademarks of their respective owners.

RMS #91-409-01 Issued: 2014/10