



For Informational Use Only

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)

 In Vitro Diagnostic Medical Device

U.S. Patent #8,343,726

For Canadian Users: For Laboratory Use Only

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)

 Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

Patente de EE.UU. n.º 8.343.726

DEUTSCH s. 14

Membranenzymimmunoassay-Schnelltest für den Nachweis von *Entamoeba histolytica* Adhäsion in menschlichen Stuhlproben

Katalognr. T30409 (25 Tests)

 Medizinprodukt für die *In-Vitro*-Diagnostik

US-Patent Nr. 8.343.726

FRANÇAIS p. 20

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)

 Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

Brevet américain n° 8 343 726

Pour les utilisateurs canadiens: Pour usage en laboratoire seulement

ČEŠTINA str. 26

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

Katalogové č. T30409 (25 testů)

 *In Vitro* Diagnostické lékařské zařízení

Patent USA č. 8,343,726

DANSK s. 31

En hurtig membran-enzym-immunassay til påvisning af *Entamoeba histolytica*-adhesin i humane fæcesprøver

Katalog nr. T30409 (25 test)

 Medicinsk anordning til *in vitro*-diagnose

Amerikansk patent nr. 8,343,726

ΕΛΛΗΝΙΚΑ σελ. 36

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

Αρ. καταλόγου T30409 (25 εξετάσεις)

 *In Vitro* διαγνωστική ιατρική συσκευή

Δίπλωμα Ευρεσιτεχνίας Η.Π.Α. #8,343,726

MAGYAR 42. o.

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

Katalógusszám: T30409 (25 teszt)


 *In Vitro* orvosi diagnosztikai eszköz

Amerikai szabadalom száma: 8,343,726

ITALIANO p. 47

Dosaggio immunoenzimatico rapido a membrana per la rilevazione dell'adesina di *Entamoeba histolytica* in campioni fecali umani

N. di catalogo T30409 (25 Test)

 Dispositivo medico per test diagnostici *in vitro*

Brevetto USA N. 8,343,726

NEDERLANDS p. 53

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

Catalogusnr. T30409 (25 onderzoeken)

 *In vitro* diagnostisch medisch apparaat

VS-octrooi nr. 8.343.726

NORSK s. 59

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

Katalognr. T30409 (25 tester)

 Medisinsk utstyr til *in vitro*-diagnostikk

Amerikansk patentnr. 8 343 726

SVENSKA sid. 65

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

Katalognr. T30409 (25 tester)

 Medicinteknisk produkt för *in vitro*-diagnostik

U.S. Patent #8 343 726

TÜRKÇE syf. 70

İnsan Dışkı Örneklerinde *Entamoeba histolytica* Adezini Saptanması İçin Bir Hızlı Membran Enzimi Bağışıklık Testi

Katalog No. T30409 (25 Test)

 *In Vitro* Tanısal Tıbbi Cihaz

A.B.D. Patent #8,343,726

ROMÂNĂ p. 75

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

Nr. catalog T30409 (25 de teste)

 Dispozitiv medical de diagnosticare *In Vitro*

Nr. brevet S.U.A. 8.343.726

PORTUGUÊS p. 80

Um Ensaio Imunoenzimático Rápido de Membrana para a Detecção de Adesina de *Entamoeba histolytica* em Amostras Fecais Humanas

Catálogo N.º T30409 (25 Testes)

 Dispositivo Médico de Diagnóstico *In Vitro*

Patente dos EUA #8,343,726

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.

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE

Caution: U.S. Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a physician

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 abscess). *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 (contains 0.05% ProClin® 300)*

DIL SPE

Diluent (16 mL) – Buffered protein solution with grey graduated dropper assembly (contains 0.05% ProClin® 300)*

CONTROL +

Positive Control (1 mL) – *E. histolytica* antigen in a buffered protein solution (contains 0.05% ProClin® 300)*

SUBS REAG

Substrate (3.5 mL) – Solution containing tetramethylbenzidine

WASH REAG

Wash Buffer (12 mL) – Buffered solution with white graduated dropper assembly (contains 0.05% ProClin® 300)*



(contains 0.05% ProClin® 300)

Signal Word: Warning

H317: May cause an allergic skin reaction

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

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

MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Small test tubes (e.g., plastic microcentrifuge tubes)
- Disposable gloves
- Pipettor and tips
- Wooden Applicator Sticks
- 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

1. Rx Only – Prescription Only.
2. For professional use only.
3. 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.
4. Bring all components to room temperature before use to ensure proper kit reactivity.
5. 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.
6. Reagents from different kits should not be mixed or interchanged. Do not use a kit past the expiration date.
7. Caps, tips and dropper assemblies are color-coded; do NOT mix or interchange!
8. Use fecal specimens according to recommendations in the table below to obtain optimal results. Specimens that are frozen may lose reactivity due to freezing and thawing. Raw fecal specimens that are stored frozen may be thawed up to 5 times. Fecal specimens in transport media that are stored frozen may be thawed one time. When storing specimens, avoid temperature extremes and keep out of direct sunlight.

- 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 doing the test.
- The *Conjugate*, *Diluent*, *Positive Control* and *Wash Buffer* reagents contain 0.05% ProClin® 300 as a preservative. Although the concentration is low, ProClin® 300 is known to be harmful (skin sensitization may occur). If skin sensitization/irritation or rash occurs, get medical advice/attention. Take off contaminated clothing and wash it before reuse. Handle reagents according to existing regulations for laboratory safety and good laboratory practice. Safety Data Sheets for this product are available upon request, contact technical support.
- Follow your national, regional, and local ordinances accordingly for waste disposal regulations.

COLLECTION, HANDLING AND STORAGE OF FECAL SPECIMENS

| Acceptable Sample Types | Do Not Use |
|---|---|
| Fresh Fecal Specimens | Fecal specimens in Formalin-based fixative (e.g. Sodium Acetate Formalin, 10% formalin) |
| Frozen Fecal Specimens (frozen undiluted) | Fecal specimens in alcohol-based fixative (e.g. Polyvinyl Alcohol) |
| Fecal specimens in transport media (e.g. Cary Blair, C&S) | |

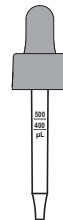
| Sample Storage Temperature | Acceptable Length of Storage | Comments |
|--------------------------------|------------------------------|---|
| Room Temperature (18°C - 25°C) | 24 hours | Fresh samples that will be tested within 24 hours may remain at room temperature (18°C - 25°C). If testing is not planned in <24 hours, refrigerate (2°C - 8°C) as soon as possible following collection. |
| Refrigerated (2°C - 8°C) | 1 week | |
| Frozen ≤ -10°C | 7 months | Freeze specimens and store at ≤ -10°C if testing cannot be performed within 1 week of collection. Thaw at room temperature. Freezing and thawing multiple times may result in loss of specimen activity due to antigen degradation. |

- Use standard in-house collection and handling procedures for fecal specimens. Collect fecal specimens in clean, leak-proof containers.
- Do not store fecal specimens in the *Diluent*.

TEST PROCEDURE

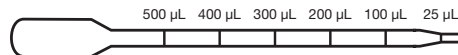
- Be attentive to the total assay time when testing more than one fecal specimen.
- Bring all reagents and devices to room temperature before use. Remove the reagents from the foam insert to reduce the time needed to warm to room temperature.
- Set up and label one small test tube for each specimen and optional external control.
- Using the gray graduated dropper assembly, add 500 µL of *Diluent* (2nd graduation from the tip) to each tube for fresh and frozen specimens, and external controls. For specimens in transport media such as Cary Blair or C&S, add 400 µL (1st graduation from the tip) of *Diluent* to the tube.

| Sample Type | Volume of Diluent |
|--|--|
| Fresh Fecal Specimens | 500 µL (2 nd graduation from tip) |
| Frozen Fecal Specimens (frozen undiluted) | 500 µL (2 nd graduation from tip) |
| Specimens in transport media (Cary Blair, C&S) | 400 µL (1 st graduation from tip) |
| External Controls (positive and negative) | 500 µL (2 nd graduation from tip) |



- 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 pipette, 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.
Fecal specimens in Cary Blair or C&S transport media - pipette 100 µL (2 drops from transfer pipette) of sample into the *Diluent/Conjugate* mixture.
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.

8. **Optional External Controls:**

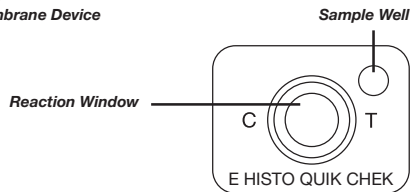
Option control cassettes may be run concurrently with patient samples.

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.

9. 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*.
10. 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



11. 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* and onto the wicking pad.
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 10 minutes.

INTERPRETATION OF RESULTS



Positive Result



Negative Result



Invalid Result



Invalid Result

1. Interpretation of the test is most reliable when the device is read at the end of the 10 minute reaction period. Read the device at a normal working distance in a well-lit area. View with a line of vision directly over the device.
2. Observe device for the appearance of a blue line on the "C" side of the *Reaction Window* representing the internal positive control line. Observe device for the appearance of a blue line on the "T" side along with a blue control line is interpreted as a positive result. An obvious partial line is interpreted as a positive result. Do not interpret membrane discoloration or shadow as a positive result. A positive result indicates the presence of *E. histolytica*.
3. **Positive Result:** A positive result may be interpreted at any time between the addition of *Substrate* and the 10-minute read time. Two blue lines are visible, the control line ("C") and the test line ("T"). The lines may appear faint to dark in intensity. The appearance of a blue line on the "T" side along with a blue control line is interpreted as a positive result. An obvious partial line is interpreted as a positive result. A positive result indicates the presence of *E. histolytica*.
4. **Negative Result:** A test cannot be interpreted as negative or invalid until 10 minutes following the addition of *Substrate*. A single blue line is visible on the control ("C") side of the *Reaction Window* and no test line is visible on the "T" side of the *Reaction Window*. A negative result indicates *E. histolytica* is either absent in the specimen or is below the detection limit of the test.
5. **Invalid Result:** A single line is visible on the test ("T") side of the *Reaction Window*, or no lines are visible in the *Reaction Window*. The test result is invalid if a control line is not present at the completion of the reaction period.

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.
3. Due to the small number of positive specimens collected during the prospective clinical study, performance characteristics for *E. histolytica* were also established with retrospective clinical specimens.
4. 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.

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 a Composite Reference Method (CRM), which included molecular detection of *Entamoeba histolytica*. A total of 851 fecal samples were evaluated and included 96 retrospective samples. Age information was available for 851 patients. Of the 851 patients, 18.9% were ≤ 20 years. Sex information was available for 851 patients, and 42.7% were male and 57.3% were female. Table 1 and 2 show a summary of the clinical performance of the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test. Table 1 represents the results for the prospective samples, of the 755 prospectively collected samples, 100 of the prospectively collected samples were diluted in Protocol™ Cary-Blair and Para-Pak® C&S. All of the samples diluted in transport media and tested were negative. The prospective testing did show that the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test exhibited a sensitivity of 40.0%, with a specificity of 100%, a predictive positive value of 100%, and a predictive negative value of 99.6% with the CRM. Table 2 represents the results for the retrospective samples, which showed that the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test exhibited a sensitivity and specificity of 100% with the CRM.

Table 1. Summary of prospective clinical performance comparing the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test to the Composite Reference Method (CRM) Prospective Samples

| N = 755 | Composite Reference Method Positive | Composite Reference Method Negative |
|---|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positive | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negative | 3 | 750 |

| | | 95% Confidence Limits |
|---------------------------|-------|-----------------------|
| Sensitivity | 40.0% | 7.3% - 83.0% |
| Specificity | 100% | 99.4% - 100% |
| Predictive Positive Value | 100% | 19.8% - 100% |
| Predictive Negative Value | 99.6% | 98.7% - 99.9% |

All three of the false negative results were PCR positive and antigen negative. Additional antigen testing was done with a previously cleared FDA device.

Table 2. Summary of retrospective clinical performance comparing the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test to the Composite Reference Method (CRM) Retrospective Samples

| N = 96 | Composite Reference Method Positive | Composite Reference Method Negative |
|---|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positive | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negative | 0 | 66 |

| | | 95% Confidence Limits |
|-------------|------|-----------------------|
| Sensitivity | 100% | 85.9% - 100% |
| Specificity | 100% | 93.1% - 100% |

REPRODUCIBILITY

The reproducibility of the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test was determined using 8 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 included 2 negative samples, 2 high negative samples, 2 low positive samples and 2 moderate positive samples. The samples were tested in triplicate 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> O157:H7 | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| <i>Campylobacter coli</i> | <i>Escherichia coli</i> E1EC | <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> ETEC | <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 |

Cross reactivity with Norovirus is unknown because it was not tested in analytical studies. However, Norovirus GI/GII was identified in 50 clinical specimens using an FDA cleared multiplex NAAT assay during clinical testing and no cross reactivity was found using the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* in those samples.

Additionally, the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test was run on fecal specimens documented to be positive for other parasites by microscopy. The number in parenthesis is the number of clinical specimens in which each organism was identified. No cross-reactivity was seen with the following organisms.

| | |
|--|----------------------------------|
| <i>Ascaris lumbricoides</i> and with eggs (21) | <i>Entamoeba bangladeshi</i> (3) |
| <i>Blastocystis hominis</i> (12) | <i>Entamoeba coli</i> (13) |
| <i>Cryptosporidium spp.</i> (30) | <i>Entamoeba moshkovskii</i> (3) |

| |
|--------------------------------------|
| <i>Giardia spp.</i> (45) |
| <i>Iodamoeba bütschlii</i> (10) |
| <i>Trichuris trichiura</i> eggs (11) |

STRAIN SPECIFIC STUDY

The specificity of the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test was also evaluated by examining the reactivity of pathogenic (*Entamoeba histolytica*) and non-pathogenic (*Entamoeba dispar*) zymodemes (strains) for reactivity by standard curve dilutions. *E. histolytica* results were positive from 244 to 30.5 pathogenic zymodemes (PZs)/mL and the *E. dispar* results were negative at all dilutions beginning at 2440 non-pathogenic zymodemes (NPZs)/mL. The *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test demonstrates proper reactivity with *Entamoeba histolytica* and does not cross-react with *Entamoeba dispar*.

Additionally, due to the similarity in morphology, 3 specimens identified by PCR as positive for *Entamoeba moshkovskii* and 3 positive for *Entamoeba bangladeshi* were evaluated using the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test. These 6 specimens all tested negative in the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test.

INTERFERING SUBSTANCES (U.S. FORMULATION)

The following substances had no effect on positive or negative test results analyzed at the concentrations indicated: Barium sulfate (5% w/v), Benzalkonium Chloride (1% w/v), Ciprofloxacin (0.25% w/v), Ethanol (1% w/v), Hog gastric mucin (3.5% w/v), Human blood (40% v/v), Hydrocortisone (1% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Leukocytes (0.05% w/v), Maalox® Advanced (5% v/v), Mesalazine (10% w/v), Metronidazole (0.25% w/v), Mineral Oil (10% w/v), Mylanta® (4.2 mg/mL), Naproxen Sodium (5% w/v), Nonoxonyl-9 (40% w/v), Nystatin (1% w/v), Palmitic Acid/Fecal Fat (40% w/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Phenylephrine (1% w/v), Polyethylene glycol 3350 (10% w/v), Prolisec OTC® (5 µg/mL), Sennosides (1% w/v), Simethicone (10% w/v), Steric Acid/Fecal Fat (40% w/v), Tagamet® (5 µg/mL), TUMS (50 µg/mL), Human Urine (5% v/v), and Vancomycin (0.25% w/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. The overall correlation between the results was 100%.

PRECISION – INTER-ASSAY

For the determination of inter-assay performance, eight human fecal specimens were analyzed by the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test. The samples included 2 negative samples, 2 high negative samples, 2 low positive samples and 2 moderate positive samples. 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 320 pathogenic zymodemes (PZs)/mL for *E. histolytica* (equivalent to 15 PZs detected per test). For specimens in Protocol™ Cary Blair media, the LoD was established at 275 PZs/mL for *E. histolytica* (equivalent to 14 PZs detected per test). For specimens in Para-Pak® C&S media, the LoD was established at 245 PZs/mL for *E. histolytica* (equivalent to 12 PZs detected per test).

FRESH VERSUS FROZEN SAMPLES

The effect of long term frozen specimen storage on antigen stability was evaluated. For the analysis, a total of 15 fecal specimens were tested with the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test. The fecal specimens consisted of 3 negative fecal samples, 3 *E. histolytica* high negative fecal samples, 3 *E. histolytica* low positive fecal samples, 3 *E. histolytica* moderate positive fecal samples, and 3 *E. histolytica* high positive fecal samples. Samples were prepared and stored < -10°C at 0, 1, and 4, 8, 12, 16, 20, 24 and 28 weeks. No conversion of positive-to-negative or negative-to-positive was observed in any of the samples at the specified time points.

PROZONE

To ensure that a high concentration of *E. histolytica* antigen does not interfere with a positive reaction in the *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test, high samples were prepared by spiking a negative fecal pool at a concentration possibly observed in clinical specimens. A total of 5 different dilutions of the antigen, up to and including the clinically observed high concentration, were prepared and tested in triplicate. The results demonstrated that there was no overall prozone affect, that elevated levels of antigen did not affect the detection of the antigen.

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 un cassette de uso único. Está pensado para uso con muestras fecales humanas 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 anamnesis del paciente.

PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

Atención: Las leyes federales de EE.UU. restringen la venta de este producto a facultativos o bajo prescripción médica.

FUNDAMENTO

Entamoeba histolytica y *Entamoeba dispar* son parásitos intestinales que infectan cada año a unos 500 millones de personas en todo el mundo (1). Es necesario distinguir entre estas dos especies porque *E. histolytica* es patógena y provoca 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 microscopía en fresco, que tiene baja sensibilidad y especificidad. Los trofozoitos 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 la prueba, 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 almohadillado y alcanzan una membrana en la que son capturados por los anticuerpos anti-adhesina inmovilizados en la línea. A continuación, se lava la ventana de reacción con el tampón de lavado y después se añade el 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, controla/confirmar que la muestra y los reactivos se han añadido correctamente, que los reactivos tenían actividad 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 proteínica tamponada (contiene ProClin® 300 al 0,05 %)*
- DIL SPE** **Diluyente (16 ml):** solución proteínica tamponada con cuentagotas graduado gris (contiene ProClin® 300 al 0,05 %)*
- CONTROL +** **Control positivo (1 ml):** antígeno de *E. histolytica* en una solución proteínica tamponada (contienen ProClin® 300 al 0,05 %)*
- SUBS REAG** **Sustrato (3,5 ml):** solución con tetrametilbenzidina
- WASH REAG** **Tampón de lavado (12 ml):** solución tamponada con cuentagotas graduado blanco (contiene ProClin® 300 al 0,05 %)*



*(contiene ProClin® 300 al 0,05 %)

Indicación de advertencia: Advertencia

H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

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

MATERIALES Y EQUIPAMIENTO NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Tubos de ensayo pequeños (p. ej. tubos de plástico de microcentrifugadora)
- Varillas aplicadoras de madera
- Guantes desechables
- Pipeta y puntas de pipeta
- Cronómetro

PERÍODO 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

- Producto sujeto a prescripción médica
- Exclusivamente para uso profesional.
- A su recepción, se inspeccionará el kit para comprobar que los componentes no estén congelados ni calientes al tacto debido a condiciones de envío inadecuadas y que no haya signos de fuga.
- Lleve todos los componentes a temperatura ambiente antes de su uso para garantizar la reactividad adecuada del kit.
- 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.
- No deben mezclarse ni intercambiarse reactivos de kits diferentes. No utilice los kits después de la fecha de caducidad.
- Los tapones, las puntas y los cuentagotas están codificados con colores y NO deben mezclarse.

ES

- Para obtener unos resultados óptimos, utilice las muestras fecales de acuerdo con las recomendaciones de la tabla que figura a continuación. Las muestras congeladas pueden perder su reactividad como consecuencia de los procesos de congelación y descongelación. Las muestras fecales sin tratar que se almacenan congeladas pueden descongelarse hasta 5 veces. Las muestras fecales conservadas en un medio de transporte y que se almacenan congeladas pueden descongelarse una vez. Cuando se almacenen muestras, evite temperaturas extremas y la luz solar directa.
- La prueba se ha optimizado para mejorar la sensibilidad y la especificidad. Las alteraciones del procedimiento especificado 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.
- Los reactivos *conjugado*, *diluyente*, *control positivo* y *tampón de lavado* contienen ProClin® 300 al 0,05 % como conservante. Aunque la concentración es baja, se sabe que ProClin® 300 es nocivo (puede producirse sensibilización cutánea). En caso de irritación/sensibilización o erupción cutánea, consulte a un médico. Quite las prendas contaminadas y lávelas antes de volver a usarlas. Manipule los reactivos de acuerdo con las normas existentes de seguridad de laboratorio y buenas prácticas de laboratorio. Se dispone de fichas de datos de seguridad de este producto bajo pedido; consulte al servicio técnico.
- Siga las normas nacionales, regionales y locales para consultar los reglamentos de eliminación de residuos.

RECOGIDA, MANIPULACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS FCALES

| Tipos de muestra aceptables |
|---|
| Muestras fecales recientes |
| Muestras fecales congeladas (congeladas no diluidas) |
| Muestras en medios de transporte (p. ej. Cary Blair, C&S) |

| No utilizar |
|---|
| Muestras fecales en fijador basado en formol (p. ej. formol acetato sódico, formol al 10 %) |
| Muestras fecales en fijador basado en alcohol (p. ej. alcohol polivinílico) |

| Temperatura de conservación de la muestra | Duración aceptable de la conservación | Comentarios |
|---|---------------------------------------|--|
| Temperatura ambiente (18 °C - 25 °C) | 24 horas | Las muestras recientes que se analizarán en 24 horas pueden permanecer a temperatura ambiente (18 °C - 25 °C). Si no está previsto analizarlas en menos de 24 horas, se deben refrigerar (2 °C - 8 °C) en cuanto sea posible tras su recogida. |
| Refrigerada (2 °C - 8 °C) | 1 semana | |

ES

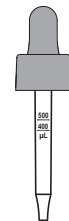
| Temperatura de conservación de la muestra | Duración aceptable de la conservación | Comentarios |
|---|---------------------------------------|---|
| Congelada ≤ -10 °C | 7 meses | Congelar las muestras y consérvelas a ≤ -10 °C si la prueba no puede realizarse en la semana siguiente a su recogida. Descongelar a temperatura ambiente. La realización de múltiples ciclos de congelación y descongelación puede provocar la pérdida de actividad de la muestra debido a la degradación del antígeno. |

- Utilice los procedimientos estándar de recogida y transporte de las muestras fecales utilizados a nivel interno. Recoja las muestras fecales en recipientes limpios y a prueba de fugas.
- No conserve las muestras fecales en el *diluyente*.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

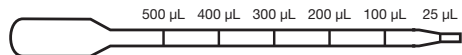
- Preste atención al tiempo total del análisis cuando realice la prueba con más de una muestra fecal.
- Lleve todos los reactivos y dispositivos a temperatura ambiente antes del uso. Retire los reactivos de la tira de espuma para reducir el tiempo necesario para calentarlos a temperatura ambiente.
- Asigne e identifique un tubo de ensayo pequeño para cada muestra, así como para los controles externos opcionales.
- Añada 500 µl de *diluyente* (2.ª graduación desde la punta) a cada tubo para muestras fecales recientes o congeladas y para los controles externos utilizando el cuentagotas graduado gris. En el caso de muestras en medios de transporte como Cary Blair o C&S, añada 400 µl de *diluyente* (1.ª graduación desde la punta) al tubo.

| Tipo de muestra | Volumen de <i>diluyente</i> |
|--|--|
| Muestras fecales recientes | 500 µl (2.ª graduación desde la punta) |
| Muestras fecales congeladas (congeladas no diluidas) | 500 µl (2.ª graduación desde la punta) |
| Muestras fecales en medios de transporte (Cary Blair, C&S) | 400 µl (1.ª graduación desde la punta) |
| Controles externos (positivos y negativos) | 500 µl (2.ª graduación desde la punta) |



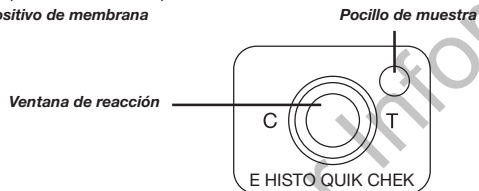
- Añada una gota de *conjugado* (frasco con tapón rojo) a cada tubo. Sostenga los frascos del cuentagotas verticalmente para garantizar un tamaño de gota adecuado. El *diluyente* y el *conjugado* deben añadirse a los tubos antes de añadir las muestras.
- Utilice una pipeta de plástico desechable (suministradas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

Pipeta de transferencia 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 del tubo.
Para muestras formadas/sólidas: mezcle bien la muestra con una varilla aplicadora 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. Emulsiona la muestra con la varilla aplicadora.
Muestras fecales en medios de transporte Cary Blair o C&S - pipeta de 100 µl (2 gotas de la pipeta de transferencia) de muestra en la mezcla diluyente/conjugado.
NOTA: Si se transfiere una cantidad demasiado pequeña 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 a un flujo reducido.
- Controles externos opcionales:**
Se pueden utilizar cassettes de control opcionales en paralelo a las muestras de pacientes.
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 hasta 2 horas antes de añadirlos al dispositivo de membrana.
- Abrá una bolsa de dispositivo de membrana a temperatura ambiente para cada muestra diluida y control externo (según sea necesario). Etiquete cada uno de los dispositivos de forma apropiada y oriéntelos en una superficie plana de forma que la inscripción "E HISTO QUIK CHEK" se encuentre en la parte inferior del dispositivo y el pocillo de muestra pequeño se encuentre en la esquina superior derecha del dispositivo.

Dispositivo de membrana



- Compruebe que cada muestra diluida esté bien mezclada (véase el paso 9) antes de añadirla 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 en ángulo hacia la ventana de reacción.

- Incube el dispositivo a temperatura ambiente durante 15 minutos: la muestra se absorberá a través del dispositivo y la zona húmeda se extenderá a través de 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 de muestra, añada 100 µl (4 gotas) de diluyente al pocillo de muestra y espere otros 5 minutos (un total de 20 minutos). Continúe con el paso siguiente del procedimiento de prueba.

- Después de la incubación, añada 300 µl de tampón de lavado a la ventana de reacción utilizando el cuentagotas blanco graduado. Deje que el tampón de lavado se absorba completamente.
- Añada 2 gotas de sustrato (frasco con tapón blanco) a la ventana de reacción.
- Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente. Lea y anote los resultados observados después de 10 minutos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS



Resultado positivo



Resultado negativo



Resultado no válido



Resultado no válido

- La interpretación de la prueba es más fiable cuando se lee el dispositivo justo pasado del periodo de reacción de 10 minutos. Lea el dispositivo a una distancia normal en una zona bien iluminada. Mire con una línea de visión directamente sobre el dispositivo.
- Observe la aparición de una línea azul en el lado "C" de la ventana de reacción que representa la línea de control positivo interno. Observe la aparición de una línea azul en el lado "T" de la ventana de reacción que representa la línea de prueba. Las líneas pueden ser débiles o intensas.
- Resultado positivo: Un resultado positivo puede interpretarse en cualquier momento entre la adición del sustrato y el tiempo de lectura de 10 minutos. Se observan dos líneas azules: la línea de control ("C") y la línea de la prueba ("T"). Las líneas pueden ser débiles o intensas. La aparición de una línea azul en el lado "T" y una línea de control azul se interpreta como un resultado positivo. Una línea parcialmente visible se interpreta como un resultado positivo. No interprete la decoloración de la membrana o una sombra como un resultado positivo. Un resultado positivo indica la presencia de *E. histolytica*.
- Resultado negativo: Una prueba no puede interpretarse como negativa o no válida hasta 10 minutos después de la adición del sustrato. Se observa una sola línea azul en el lado de control ("C") de la ventana de reacción y no se observa ninguna línea de la prueba en el lado "T" de la ventana de reacción. Un resultado negativo indica que el antígeno de *E. histolytica* está ausente en la muestra o se encuentra por debajo del límite de detección de la prueba.

5. Resultado no válido: Se observa una sola línea en el lado de la prueba ("T") de la *ventana de reacción* o no se observan líneas en la *ventana de reacción*. El resultado de la prueba no es válido si no se encuentra presente una línea de control al terminar el periodo de reacción.

CONTROL DE CALIDAD

La validez de los resultados al usar la prueba *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* que se analiza. 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 de la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* debe comprobarse al recibir el kit, mediante 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 en el corte analítico del ensayo. Pueden realizarse pruebas adicionales con los controles para cumplir los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales y los de los organismos de acreditación.

LIMITACIONES

- Un resultado negativo de la prueba no descarta 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.
- La prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* es cualitativa. La intensidad del color no debe interpretarse cuantitativamente.
- Debido al número reducido de muestras positivas recogidas durante el estudio clínico prospectivo, la eficacia de la prueba para *E. histolytica* también se demostró con muestras clínicas retrospectivas.
- Si se transfiere una cantidad demasiado pequeña 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 a un flujo reducido.

VALORES ESPERADOS

Las personas sanas no deberían estar infectadas por *E. histolytica* y deberían dar un resultado negativo en la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Un resultado positivo en la prueba *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 inmunodeprimidas, trabajadores extranjeros y varones homosexuales activos (2, 3). Las cepas no patógenas (*E. dispar*) son las predominantes entre los varones homosexuales (4). Con frecuencia la enfermedad se transmite a través de portadores asintomáticos de *E. histolytica*.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

La eficacia de la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* se comparó con un método de referencia mixto (*Composite Reference Method, CRM*) que incluía la detección molecular de *Entamoeba histolytica*. Se analizaron un total de 851 muestras fecales, incluidas 96 muestras retrospectivas. Se disponía de información sobre la edad de 851 pacientes. De los 851 pacientes, el 18,9 % tenían ≤ 20 años. Se disponía de información sobre el sexo de 851 pacientes; el 42,7 % eran varones y el 57,3 %, mujeres. Las Tablas 1 y 2 muestran un resumen de la eficacia clínica del ensayo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. La Tabla 1 presenta los resultados para las muestras prospectivas. De las 755 muestras recogidas de forma prospectiva, 100 se diluyeron en Protocol™ Cary-Blair y Para-Pak™ C&S. Todas las muestras diluidas en medios de transporte y analizadas fueron negativas. Los ensayos prospectivos demostraron que la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* tenía una sensibilidad del 40,0 %, con una especificidad del 100 %, un valor predictivo positivo del 100 % y un valor predictivo negativo del 99,6 % con el CRM. La Tabla 2 presenta los resultados de las muestras retrospectivas, los cuales demuestran que la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* tiene una sensibilidad y una especificidad del 100 % con el CRM.

Tabla 1. Resumen de la eficacia clínica prospectiva comparando la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* con el método de referencia mixto (CRM) para las muestras prospectivas

| N = 755 | Positivo con el método de referencia mixto | Negativo con el método de referencia mixto |
|---|--|--|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positivo | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativo | 3 | 750 |

| | | Límites de confianza del 95 % |
|---------------------------|--------|-------------------------------|
| Sensibilidad | 40,0 % | 7,3 % - 83,0 % |
| Especificidad | 100 % | 99,4 % - 100 % |
| Valor predictivo positivo | 100 % | 19,8 % - 100 % |
| Valor predictivo negativo | 99,6 % | 98,7 % - 99,9 % |

Los tres resultados falsos negativos fueron positivos con la prueba de RCP y negativos con antígenos. Se realizaron ensayos complementarios con antígenos mediante un dispositivo previamente aprobado por la FDA.

Tabla 2. Resumen de la eficacia clínica retrospectiva comparando la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* con el método de referencia mixto (CRM) para las muestras retrospectivas

| N = 96 | Positivo con el método de referencia mixto | Negativo con el método de referencia mixto |
|---|--|--|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positivo | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativo | 0 | 66 |

| | | Limites de confianza del 95 % |
|---------------|-------|-------------------------------|
| Sensibilidad | 100 % | 85,9 % - 100 % |
| Especificidad | 100 % | 93,1 % - 100 % |

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad de la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* se determinó utilizando 8 muestras fecales codificadas para evitar su identificación durante los ensayos. Los ensayos se realizaron en 2 laboratorios independientes e *in situ* en TECHLAB, Inc. Se analizaron 2 muestras negativas, 2 muestras negativas de nivel alto, 2 muestras positivas de nivel bajo y 2 muestras positivas de nivel moderado. Las muestras se analizaron por triplicado dos veces al día durante un periodo de 5 días por parte de varios técnicos en cada centro, usando 2 lotes de kit diferentes. Se realizó 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 los resultados internos. Los resultados fueron coherentes entre las diferentes localizaciones y mostraron una correlación del 100 %. Las muestras produjeron los resultados esperados en el 100 % de 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 funcionamiento 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> O157:H7 | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| <i>Campylobacter coli</i> | <i>Escherichia coli</i> EIEC | <i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan) |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | <i>Escherichia coli</i> EPEC | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | <i>Escherichia coli</i> ETEC | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> |
| <i>Candida albicans</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Yersinia enterocolitica</i> |
| <i>Clostridium bifementans</i> | <i>Salmonella typhimurium</i> | |
| Adenovirus, 2, 5, 40, 41 | Coronavirus humano | Parechovirus humano 1 |
| Virus de Coxsackievirus B5 | Virus de Coxsackie humano | [E]chovirus 22] |
| Echovirus 11, 18, 22, 33 | B2, B3, B4 | Rotavirus humano |
| Enterovirus 68, 69 | Echovirus humano 9 | |
| Adenovirus humano 1, 3 | Enterovirus humano 69, 70, 71 | |

La reactividad cruzada con norovirus se desconoce porque no se probó en los estudios analíticos. Sin embargo, se identificó el norovirus GI/GII en 50 muestras clínicas utilizando un ensayo NAAT multiplex aprobado por la FDA durante los ensayos clínicos, y no se demostró reactividad cruzada utilizando la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* en esas muestras.

Además, se realizó la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* en muestras fecales documentadas como positivas para otros parásitos al microscopio. El número entre paréntesis es el número de muestras clínicas en las que se identificó cada organismo. No se detectó reactividad cruzada con los siguientes organismos.

| | | |
|---|----------------------------------|---|
| <i>Ascaris lumbricoides</i> y sus huevos (21) | <i>Entamoeba bangladeshi</i> (3) | <i>Giardia spp.</i> (45) |
| <i>Blastocystis hominis</i> (12) | <i>Entamoeba coli</i> (13) | <i>Iodamoeba bütschlii</i> (10) |
| <i>Cryptosporidium spp.</i> (30) | <i>Entamoeba moshkovskii</i> (3) | Huevos de <i>Trichuris trichiura</i> (11) |

Estudio específico de cepa

También se evaluó la especificidad de la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* examinando la reactividad de zimodemos (cepas) patógenos (*Entamoeba histolytica*) y no patógenos (*Entamoeba dispar*) mediante curvas de dilución estándar. Los resultados de *E. histolytica* fueron positivos desde 244 hasta 30,5 zimodemos patógenos (ZP)/ml y los resultados de *E. dispar* fueron negativos en todas las diluciones, empezando en 2.440 zimodemos no patógenos (ZNP)/ml. La prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* demuestra una actividad adecuada con *Entamoeba histolytica* y no presenta reactividad cruzada con *Entamoeba dispar*.

Además, debido a su morfología similar, se evaluaron 3 muestras identificadas mediante RCP como positivas para *Entamoeba moshkovskii* y 3 positivas para *Entamoeba bangladeshi*, utilizando la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Estas 6 muestras dieron resultados negativos en la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*.

SUSTANCIAS INTERFERENTES (FORMULACIÓN DE EE.UU.)

Las siguientes sustancias no tuvieron ningún efecto en los resultados positivos o negativos de la prueba, analizadas a las concentraciones indicadas: sulfato de bario (5 % p/v), cloruro de benzalconio (1 % p/v), ciprofloxacino (0,25 % p/v), etanol (1 % p/v), mucina gástrica de cerdo (3,5 % p/v), sangre humana (40 % v/v), hidrocortisona (1 % p/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), leucocitos (0,05 % p/v), Maalox® Advanced (5 % v/v), mesalazina (10 % p/v), metronidazol (0,25 % p/v), parafina líquida (10 % p/v), Mylanta® (4,2 mg/ml), naproxeno sódico (5 % p/v), nonoxinol-9 (40 % p/v), nistatina (1 % p/v), ácido palmítico/grasa fecal (40 % p/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), fenilefrina (1 % p/v), polietilenglicol 3350 (10 % p/v), Prilosec OTC® (5 µg/ml), senósidos (1 % p/v), simeticona (10 % p/v), ácido esteárico/grasa fecal (40 % p/v), Tagamet® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), orina humana (5 % v/v) y vancomicina (0,25 % p/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. La correlación total entre los resultados fue del 100 %.

PRECISIÓN INTERANALÍTICA

Para la determinación del rendimiento interanalítico se analizaron ocho muestras fecales humanas mediante el ensayo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Se analizaron 2 muestras negativas, 2 muestras negativas de nivel alto, 2 muestras positivas de nivel bajo y 2 muestras positivas de nivel moderado. Las muestras se analizaron dos veces al día, por parte de varios técnicos, durante un período de 12 días, usando 2 lotes de kit diferentes. Se realizó un control positivo y negativo cada día. Todas las muestras positivas seguían siendo positivas y todas las muestras negativas seguían siendo negativas.

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El límite de detección (LdD) de la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* se estableció en 320 zimodemos patógenos (ZP)/ml para *E. histolytica* (equivalente a 15 ZP detectados por prueba). Para muestras en medio Protocol™ Cary Blair, el LdD se estableció en 275 ZP/ml para *E. histolytica* (equivalente a 14 ZP detectados por prueba). Para muestras en medio Para-Pak® C&S, el LdD se estableció en 245 ZP/ml para *E. histolytica* (equivalente a 12 ZP detectados por prueba).

MUESTRAS RECIENTES FRENTE A MUESTRAS CONGELADAS

Se evaluó el efecto de la conservación prolongada de muestras congeladas en la estabilidad del antígeno. Se analizaron un total de 15 muestras fecales mediante el ensayo *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Se utilizaron 3 muestras fecales negativas, 3 muestras fecales con *E. histolytica* de nivel negativo alto, 3 muestras fecales con *E. histolytica* de nivel positivo bajo, 3 muestras fecales con *E. histolytica* de nivel positivo moderado y 3 muestras fecales con *E. histolytica* de nivel positivo elevado. Las muestras se prepararon y almacenaron a ≤ -10 °C a las 0, 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24 y 28 semanas. No se observó ninguna conversión de positivo a negativo ni de negativo a positivo en ninguna de las muestras en los momentos especificados.

PROZONA

Para asegurar que una concentración elevada de antígeno de *E. histolytica* no interfiere con una reacción positiva en la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*, se prepararon muestras muy concentradas mediante el enriquecimiento con una mezcla fecal negativa a una concentración potencialmente observada en muestras clínicas. Se prepararon y analizaron por triplicado un total de 5 diluciones distintas de antígeno, llegando hasta, e incluyendo, la concentración elevada observada clínicamente. Los resultados demostraron que no hubo ningún efecto prozona en general, que los niveles elevados de antígeno no afectaron a la detección del antígeno.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

VERWENDUNGSZWECK

Der *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Test von TECHLAB® ist ein Membranenzymimmunoassay-Schnelltest für den qualitativen Nachweis von Adhäsın aus *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 zusammen mit der Patientenanamnese zu betrachten.

IN-VITRO-DIAGNOSTIKUM

Achtung: Gemäß US-Bundesgesetz ist der Verkauf dieses Produkts an Ärzte bzw. auf Anordnung eines Arztes beschränkt

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 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 aus immobilisierten Antikörpern. Die Testlinie („T“) enthält monoklonale spezifische Antikörper für *E. histolytica*-Adhäsın. 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 *Probenvertiefung* gegeben und die *Testkarte* bei Raumtemperatur 15 Minuten inkubiert. Während der Inkubation bindet in der Probe vorhandenes *E. histolytica*-Adhäsın an das Antikörper-Peroxidase-Konjugat. Die Antigen-Antikörper-Peroxidase-Komplexe migrieren durch ein Filterpad zu einer Membran, wo sie von den immobilisierten Anti-Adhäsın-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* zeigt ein positives Ergebnis an. 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 Probenmischung durch die *Testkarte* stattgefunden hat. Sie bestätigt zudem die Reaktivität der anderen Testreagenzien.

PACKUNGSINHALT

| | |
|-----------|---|
| MEM DEV | Testkarten – Jeder Beutel enthält 1 Testkarte |
| CONJ ENZ | Konjugat (2 mL) – Spezifischer Antikörper für <i>E. histolytica</i> , gebunden an Meerrettich-Peroxidase, in einer gepufferten Proteinlösung (enthält 0,05% ProClin® 300)* |
| DIL SPE | Verdünnungspuffer (16 mL) – Gepufferte Proteinlösung mit grauem graduiertem Tropfer (enthält 0,05% ProClin® 300)* |
| CONTROL+ | Positive Kontrolle (1 mL) – <i>E. histolytica</i> -Antigen in einer gepufferten Proteinlösung (enthält 0,05% ProClin® 300)* |
| SUBS REAG | Substrat (3,5 mL) – Lösung mit Tetramethylbenzidin |
| WASH REAG | Waschpuffer (12 mL) – Gepufferte Lösung mit weißem graduiertem Tropfer (enthält 0,05% ProClin® 300)* |



*(enthält 0,05% ProClin® 300)

Signalwort: Warnung

H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen

P261, P272, P280, P302, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

Graduierte Einweg-Kunststoffpipetten (50 Stk) – 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL und 500 µL

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL (NICHT ENHALTEN)

- 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

1. Verschreibungspflichtig
2. Nur für den professionellen Gebrauch.
3. Bei Erhalt des Kits muss sichergestellt werden, dass die Bestandteile nicht aufgrund unsachgemäßer Transportbedingungen gefroren oder zu warm sind und keine Anzeichen von Undichtigkeit aufweisen.
4. Lassen Sie alle Bestandteile vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen, um eine ordnungsgemäße Reaktivität des Kits sicherzustellen.
5. Das *Substrateagens* muss farblos sein. Sollte das *Substrateagens* eine dunkelblaue/violette Färbung annehmen, wenden Sie sich bitte an den Kundendienst für einen Ersatz.
6. Reagenzien aus verschiedenen Kits nicht mischen oder miteinander vertauschen. Verwenden Sie das Testkit nicht nach dem Verfallsdatum.
7. Verschlüsse, Spitzen und Tropfer sind farbkodiert; NICHT vertauschen!

DE

- Verwenden Sie Stuhlproben gemäß den Empfehlungen in der folgenden Tabelle, um optimale Ergebnisse zu erzielen. Gefrorene Proben können aufgrund des Einfrier- und Auftauvorgangs Reaktivitätsverluste aufweisen. Frische, eingefrorene Stuhlproben können bis zu 5 Mal aufgetaut werden. Eingefrorene Stuhlproben in Transportmedien können 1 Mal aufgetaut werden. Stuhlproben bei der Lagerung keinen extremen Temperaturen aussetzen und vor direktem Sonnenlicht schützen.
- Der Test wurde 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.
- 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 Einweghandschuhe.
- Das *Konjugat*, der *Verdünnungspuffer*, die *Positive Kontrolle* und der *Waschpuffer* enthalten 0,05 % ProClin® 300 als Konservierungsstoff. Auch wenn die Konzentration gering ist, ist ProClin® 300 als schädlich bekannt (Hautsensibilisierung kann auftreten). Bei Hautsensibilisierung/-reizung ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Reagenzien gemäß vorhandenen Vorschriften für die Laborsicherheit und gute Laborpraxis behandeln. Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage erhältlich. Wenden Sie sich an den Kundendienst.
- Befolgen Sie alle geltenden nationalen, regionalen und lokalen Verordnungen in Bezug auf die Abfallentsorgung.

ENTNAHME, HANDHABUNG UND LAGERUNG VON STUHLPROBEN

| Akzeptable Probentypen |
|--|
| Frische Stuhlproben |
| Gefrorene Stuhlproben (gefroren unverdünnt) |
| Stuhlproben in Transportmedien (z. B. Cary Blair, C&S) |

| Nicht Verwenden |
|---|
| Stuhlproben in Fixiermittel auf Formalinbasis (Z. B. Natriumacetat-Formalin, Formalin 10 %) |
| Stuhlproben in Fixiermittel auf Alkoholbasis (Z. B. Polyvinylalkohol) |

| Probenlagerungstemperatur | Akzeptable Lagerdauer | Anmerkungen |
|------------------------------|-----------------------|---|
| Raumtemperatur (18°C – 25°C) | 24 Stunden | Frische Proben, die innerhalb von 24 Stunden getestet werden, können bei Raumtemperatur gelagert werden (18°C – 25°C). |
| Gekühlt (2°C – 8°C) | 1 Woche | Werden die Proben nicht innerhalb von 24 Stunden getestet, müssen sie so rasch wie möglich nach der Entnahme gekühlt gelagert werden (2°C – 8°C). |

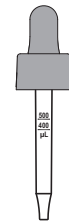
| | | |
|----------------------|----------|--|
| Gefroren bei ≤ -10°C | 7 Monate | Frieren Sie die Proben bei ≤ -10°C ein, wenn der Test nicht innerhalb von 1 Woche nach der Entnahme durchgeführt werden kann. Bei Raumtemperatur auftauen. Mehrmaliges Einfrieren und Auftauen kann zu einem Aktivitätsverlust aufgrund von Antigenabbau führen. |
|----------------------|----------|--|

- Verwenden Sie die üblichen internen Methoden zur Entnahme und Handhabung von Stuhlproben. Für die Entnahme der Stuhlproben sind saubere, dichte Behälter zu verwenden.
- Stuhlproben nicht im *Verdünnungspuffer* lagern.

TESTVERFAHREN

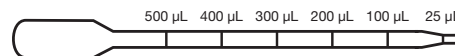
- Achten Sie beim Testen mehrerer Stuhlproben auf die Gesamttestzeit.
- Lassen Sie alle Reagenzien und Testkarten vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen. Nehmen Sie die Reagenzien aus dem Schaumstoffeinsatz, um die Aufwärmzeit zu verkürzen.
- Verwenden Sie für jede Stuhlprobe und jede zusätzliche externe Kontrolle ein eigenes Reagenzröhrchen und kennzeichnen Sie es.
- Geben Sie mithilfe des geeichten grauen Tropfers 500 µL (2. Markierung von der Spitze weg) *Verdünnungspuffer* in jedes Reagenzglas für frische und gefrorene Proben und die externen Kontrollen. Bei Proben in Transportmedien wie Cary Blair oder C&S geben Sie 400 µL (1. Markierung von der Spitze weg) *Verdünnungspuffer* in das Reagenzglas.

| Probentyp | Menge <i>Verdünnungspuffer</i> |
|---|---|
| Frische Stuhlproben | 500 µL (2. Markierung von der Spitze weg) |
| Gefrorene Stuhlproben (gefroren unverdünnt) | 500 µL (2. Markierung von der Spitze weg) |
| Proben in Transportmedien (Cary Blair, C&S) | 400 µL (1. Markierung von der Spitze weg) |
| Externe Kontrollen (positive und negative) | 500 µL (2. Markierung von der Spitze weg) |

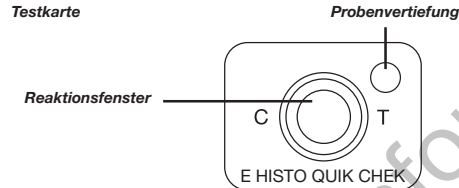


- Fügen Sie jedem Reagenzglas einen Tropfen *Konjugat* (Flasche mit rotem Verschluss) hinzu. Tropfflasche senkrecht, um die richtige Tropfengröße sicherzustellen. Der *Verdünnungspuffer* und das *Konjugat* sollten allen Reagenzgläsern vor den Proben hinzugefügt werden.
- Sie benötigen 1 Einweg-Kunststofftransferpipette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

Graduierte Transferpipette:



- Flüssige/halb feste 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.
Stuhlproben in Cary Blair oder C&S Transportmedien - Pipettieren Sie 100 µL (2 Tropfen aus der Transferpipette) Probe in die *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung.
HINWEIS: Eine unzureichende Probenmenge bzw. ein unzureichendes Mischen/unvollständiges Suspendieren der *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung kann zu einem falsch-negativen Testergebnis führen. Eine zu große Probenmenge kann aufgrund des beeinträchtigten Probenflusses zu ungültigen Ergebnissen führen.
- Optionale externe Kontrollen:**
Optionale Kontrollkassetten können mit den Patientenproben mitgeführt werden.
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.
- 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.
- 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.



- 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* und *Wicking-Pad* zeigt.
- Inkubieren Sie die *Testkarte* 15 Minuten bei Raumtemperatur** – die Probe sickert durch die Karte und eine Feuchtstelle 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 Waschwasser in das *Reaktionsfenster* in der Mitte. Verwenden Sie dazu den graduierten weißen Tropfer.** Warten Sie, bis der *Waschwasser* vollständig absorbiert ist.
- Geben Sie 2 Tropfen Substrat (Flasche mit weißem Verschluss) in das *Reaktionsfenster* in der Mitte.**
- 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. Lesen Sie die Ergebnisse nach 10 Minuten visuell ab und protokollieren Sie sie.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE



Positives Ergebnis

Negatives Ergebnis

Ungültiges Ergebnis

Ungültiges Ergebnis

- Die Auswertung des Tests ist am verlässlichsten, wenn die Ergebnisse sofort nach Ende der zehnmündigen Reaktionszeit abgelesen werden. Lesen Sie die *Testkarte* bei normalem Arbeitsabstand und in einer gut beleuchteten Umgebung ab. Folgen Sie einer Sichtlinie direkt über der *Testkarte*.
- Prüfen Sie, ob auf der „C“-Seite des *Reaktionsfensters* eine blaue Linie, die sogenannte interne Positivkontrolllinie, sichtbar ist. Prüfen Sie, ob eine blaue Linie auf der „T“-Seite des *Reaktionsfensters*, die sogenannte Testlinie, sichtbar ist. Die Farbtintensität der Linien kann schwach bis stark sein.
- Positives Ergebnis: Ein positives Ergebnis kann innerhalb des Zeitraums zwischen der Beigabe des Substrats und der 10-minütigen Ablesezeit ausgewertet werden. Zwei blaue Linien sind sichtbar, die Kontrolllinie („C“) und die Testlinie („T“). Die Farbtintensität der Linien kann schwach bis stark sein. Eine sichtbare blaue Linie auf der „T“-Seite mit gleichzeitiger blauer Kontrolllinie gilt als positives Ergebnis. Eine deutliche Teillinie gilt als positives Ergebnis. Interpretieren Sie Membranverfärbung bzw. einen Membranschatten nicht als positives Ergebnis. Ein positives Ergebnis zeigt an, dass *E. histolytica* in der Probe vorhanden ist.
- Negatives Ergebnis: Ein Test kann erst frühestens 10 Minuten nach der Beigabe des Substrats als negativ oder ungültig interpretiert werden. Eine einzelne blaue Linie ist auf der Kontrollseite („C“) des *Reaktionsfensters* sichtbar und es ist keine Testlinie auf der „T“-Seite des *Reaktionsfensters* sichtbar. Ein negatives Ergebnis zeigt an, dass entweder kein *E. histolytica* in der Probe vorhanden ist oder der Wert unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegt.
- 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, 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 mithilfe der Positiven Kontrolle und negativen Kontrolle (Verdünnungspuffer) überprüft werden. Die Positive Kontrolle dient zur Überprüfung der Reaktivität der anderen Testreagenzien und ist nicht zur Bestätigung der Verlässlichkeit beim Cut-off 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 Farbintensität darf nicht quantitativ interpretiert werden.
- Aufgrund der geringen Anzahl an positiven Proben, die bei der prospektiven klinischen Studie entnommen wurden, wurden die Leistungsdaten für *E. histolytica* auch mit retrospektiven klinischen Proben bestimmt.
- Eine unzureichende Probenmenge bzw. ein unzureichendes Mischen/unvollständiges Suspendieren der Verdünnungspuffer/Konjugat-Mischung kann zu einem falsch-negativen Testergebnis führen. Eine zu große Probenmenge kann aufgrund des beeinträchtigten Probenflusses zu ungünstigen Ergebnissen führen.

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 Inzidenz 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 einer kombinierten Referenzmethode (CRM) verglichen, die den molekularen Nachweis von *Entamoeba histolytica* umfasste. Insgesamt wurden 851 Stuhlproben evaluiert, darunter 96 retrospektive Proben. Daten zum Alter waren für 851 Patienten verfügbar. Von den 851 Patienten waren 18,9% im Alter von ≤ 20 Jahren. Daten zum Geschlecht waren für 851 Patienten verfügbar: 42,7% waren männlich und 57,3% weiblich. Tabelle 1

und 2 enthalten eine Übersicht über die klinische Leistung des *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Tests. Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse der prospektiven Proben. Von den 755 prospektiv entnommenen Proben wurden 100 in Protocol™ Cary-Blair und Para-Pak® Q&S verdünnt. Alle in Transportmedien verdünnten und getesteten Proben waren negativ. Das Testen der prospektiven Proben ergab eine Sensitivität von 40,0 %, eine Spezifität von 100 %, einen positiven Vorhersagewert von 100 % und einen negativen Vorhersagewert von 99,6 % für den *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Test bei der CRM. Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse der retrospektiven Proben, aus denen ersichtlich ist, dass der *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Test eine Sensitivität und Spezifität von 100 % bei der CRM aufwies.

Tabelle 1. Übersicht über die prospektive klinische Leistung beim Vergleich des *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Tests mit der kombinierten Referenzmethode (CRM) - Prospektive Proben

| N = 755 | CRM Positiv | CRM Negativ |
|--|-------------|-------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positiv | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativ | 3 | 750 |

| | 95%-Konfidenzgrenzen | |
|--------------------------|----------------------|---------------|
| Sensitivität | 40,0% | 7,3% - 83,0% |
| Spezifität | 100% | 99,4% - 100% |
| Positiver Vorhersagewert | 100% | 19,8% - 100% |
| Negativer Vorhersagewert | 99,6% | 98,7% - 99,9% |

Alle drei falsch-negativen Ergebnisse waren PCR-positiv und Antigen-negativ. Weitere Antigentests wurden mit einem bereits von der FDA zugelassenen Produkt durchgeführt.

Tabelle 2. Übersicht über die retrospektive klinische Leistung beim Vergleich des *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Tests mit der kombinierten Referenzmethode (CRM) - Retrospektive Proben

| N = 96 | CRM Positiv | CRM Negativ |
|--|-------------|-------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positiv | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativ | 0 | 66 |

| | 95%-Konfidenzgrenzen | |
|--------------|----------------------|--------------|
| Sensitivität | 100% | 85,9% - 100% |
| Spezifität | 100% | 93,1% - 100% |

REPRODUZIERBARKEIT

Die Reproduzierbarkeit des *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Tests wurde anhand von 8 Stuhlproben bestimmt, die zur Identifikationsverhinderung während des Tests kodiert wurden. Die Tests wurden in zwei unabhängigen Labors und intern bei TECHLAB, Inc. durchgeführt. Die Proben umfassten 2 negative Proben, 2 stark negative Proben, 2 schwach positive Proben und 2 mäßig positive Proben. Die Proben wurden in Dreifachbestimmung zweimal täglich über einen Zeitraum von 5 Tagen 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 mitgeführt. Die Ergebnisse der einzelnen Labors wurden anschließend an TECHLAB, Inc. übermittelt und mit den 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.

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 EIEC
Escherichia coli EPEC
Escherichia coli ETEC
Klebsiella pneumoniae
Salmonella typhimurium

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

Adenovirus, 2, 5, 40, 41
Coxsackievirus B5
Echovirus 11, 18, 22, 33
Enterovirus 68, 69

Humanes Adenovirus 1, 3
Humanes Coronavirus
Humanes Coxsackievirus B2, B3, B4
Humanes Echovirus 9

Humanes Enterovirus 69, 70, 71
Humanes parechovirus 1
[Echovirus 22]
Humanes Rotavirus

Eine Kreuzreaktivität mit Norovirus ist unbekannt, da sie in den analytischen Studien nicht getestet wurde. Norovirus GI/GII wurde jedoch in 50 klinischen Proben anhand eines von der FDA zugelassenen Multiplex-NAAT während der klinischen Prüfung identifiziert und es wurde keine Kreuzreaktivität mit dem *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* in diesen Proben nachgewiesen.

Zudem wurden Stuhlproben mit dem *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Test getestet, die bei der Mikroskopie ein positives Ergebnis für andere Parasiten lieferten. Die Zahl in Klammern gibt die Anzahl der klinischen Proben wieder, in denen die einzelnen Organismen identifiziert wurden. Bei den folgenden Organismen wurde keine Kreuzreaktivität beobachtet.

Ascaris lumbricoides m. Eiern (21)
Blastocystis hominis (12)
Cryptosporidium spp. (30)

Entamoeba bangladeshi (3)
Entamoeba coli (13)
Entamoeba moshkovskii (3)

Giardia spp. (45)
Iodamoeba bütschlii (10)
Trichuris trichiura (Eier) (11)

Stammspezifische Studie

Die Spezifität des *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Tests wurde zudem durch die Untersuchung der Reaktivität pathogener (*Entamoeba histolytica*) und nicht-pathogener (*Entamoeba dispar*) Zymodeme (Stämme) mittels Standardkurvenverdünnungen evaluiert. Die *E. histolytica*-Ergebnisse waren positiv von 244 bis 30,5 pathogenen Zymodemen (PZ)/mL und die *E. dispar*-Ergebnisse waren negativ bei allen Verdünnungen beginnend bei 2440 nicht-pathogenen Zymodemen (NPZ)/mL. Der *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Test zeigt eine angemessene Reaktivität mit *Entamoeba histolytica* und weist keine Kreuzreaktivität mit *Entamoeba dispar* auf.

Zudem wurden aufgrund der ähnlichen Morphologie 3 Proben, die bei der PCR positiv für *Entamoeba moshkovskii* waren, und 3 Proben, die positiv für *Entamoeba bangladeshi* waren, mit dem *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Test untersucht. Diese 6 Proben lieferten ein negatives Ergebnis beim *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Test.

STÖRSUBSTANZEN (US-FORMULIERUNGEN)

Die folgenden Stoffe hatten in den angegebenen Konzentrationen keinen Einfluss auf die positiven oder negativen Testergebnisse: Bariumsulfat (5% w/v), Benzalkoniumchlorid (1% w/v), Ciprofloxacin (0,25% w/v), Ethanol (1% w/v), Mucin aus dem Schweinegemisch (3,5% w/v), Humanblut (40% v/v), Hydrocortison (1% w/v), Iodolum (5% w/v), Kaopectate® (5% w/v), Leukozyten (0,05% w/v), Maalox® Advanced (5% w/v), Mesalazin (10% w/v), Metronidazol (0,25% w/v), Mineralöl (10% w/v), Mylanta® (4,2 mg/mL), Naproxen-Natrium (5% w/v), Nonoxonyl-9 (40% w/v), Nystatin (1% w/v), Palmitinsäure/Stuhlfett (40% w/v), Pepto-Bismol® (5% w/v), Phenylephrin (1% w/v), Polyethylenglykol 3350 (10% w/v), Prilosec OTC® (5 µg/mL), Sennoside (1% w/v), Simeticon (10% w/v), Stearinsäure/Stuhlfett (40% w/v), Tagamet® (5 µg/mL), TUMS (50 µg/mL), Humanurin (5% v/v) und Vancomycin (0,25% w/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 mitgeführt. Alle positiven Proben blieben positiv und alle negativen Proben negativ. Die Gesamtkorrelation zwischen den Ergebnissen betrug 100 %.

INTER-ASSAY-PRÄZISION

Für die Bestimmung der Inter-Assay-Leistung wurden acht menschliche Stuhlproben mit dem *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Test untersucht. Die Proben umfassten 2 negative Proben, 2 stark negative Proben, 2 schwach positive Proben und 2 mäßig positive Proben. 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 mitgeführt. Alle positiven Proben blieben positiv und alle negativen Proben negativ.

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Die Nachweisgrenze (LoD) für den *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Test wurde bei 320 pathogenen Zymodemen (PZ)/mL für *E. histolytica* festgelegt (entspricht 15 nachgewiesenen PZ pro Test). Für Proben in Protocol™ Cary Blair Medien wurde die Nachweisgrenze bei 275 PZ/mL für *E. histolytica* bestimmt (entspricht 14 nachgewiesenen PZ pro Test). Für Proben in Para-Pak® C&S Medien wurde die Nachweisgrenze bei 245 PZ/mL für *E. histolytica* festgelegt (entspricht 12 nachgewiesenen PZ pro Test).

VERGLEICH ZWISCHEN FRISCHEN UND GEFRORENE PROBEN

Die Wirkung einer Langzeitlagerung gefrorener Proben auf die Antigenstabilität wurde beurteilt. Für die Analyse wurden insgesamt 15 Stuhlproben mit dem *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Test getestet. Die Proben umfassten 3 negative Stuhlproben, 3 *E. histolytica* stark negative Stuhlproben, 3 *E. histolytica* schwach positive Stuhlproben, 3 *E. histolytica* mäßig positive Stuhlproben und 3 *E. histolytica* stark positive Stuhlproben. Die Proben wurden vorbereitet und bei $\leq -10^{\circ}\text{C}$ für den Zeitraum von 0, 1 und 4, 8, 12, 16, 20, 24 sowie 28 Wochen gelagert. Bei keiner der Proben wurde zu den vorgegebenen Zeitpunkten eine Veränderung von positiv-zu-negativ bzw. negativ-zu-positiv festgestellt.

PROZONENEFFEKT

Um eine Interferenz hoher *E. histolytica*-Antigenkonzentrationen mit einer positiven Reaktion im *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Test auszuschließen, wurden Proben mit einer hohen Antigenkonzentration vorbereitet, indem ein negatives Probenpool mit einer potenziell bei klinischen Proben beobachteten Konzentration versetzt wurde. Insgesamt wurden 5 verschiedene Verdünnungen des Antigens bis zur klinisch beobachteten Höchstkonzentration vorbereitet und in Dreifachbestimmung getestet. Die Ergebnisse zeigten, dass es zu keinem Prozoneneffekt kam und hohe Antigenkonzentrationen den Nachweis des Antigens nicht beeinträchtigten.

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.

POUR UNE UTILISATION DIAGNOSTIQUE *IN VITRO*

Attention : selon la loi fédérale des États-Unis, ce dispositif ne peut être vendu que par un médecin ou sur ordonnance.

EXPLICATION

L'*Entamoeba histolytica* et l'*Entamoeba dispar* sont des parasites intestinaux qui touchent environ 500 millions de personnes dans le monde 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 ajouté à 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 remplie de Substrat. 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 du test et que l'échantillon a correctement migré à travers le Dispositif à membrane. Il confirme la réactivité des autres réactifs associés au test.

20

MATÉRIEL FOURNI

| | |
|------------------|--|
| MEM DEV | Dispositifs à membrane – Un sachet contient 1 dispositif |
| CONJ ENZ | Conjugué (2 ml) – Anticorps spécifiques à l' <i>E. histolytica</i> conjugués à la peroxydase de raifort, dans une solution tamponnée et protéinée (contient 0,05 % de ProCin® 300)* |
| DIL SPE | Diluant (16 ml) – Solution tamponnée et protéinée avec compte-gouttes gradué gris (contient 0,05 % de ProCin® 300)* |
| CONTROL + | Contrôle positif (1 ml) – Antigène <i>E. histolytica</i> dans une solution tamponnée et protéinée (contient 0,05 % de ProCin® 300)* |
| SUBS REAG | Substrat (3,5 ml) – Solution contenant du tétraméthylbenzidine |
| WASH REAG | Tampon de lavage (12 ml) – Solution tamponnée et protéinée avec compte-gouttes gradué blanc (contient 0,05 % de ProCin® 300)* |



* (contient 0,05 % de ProCin® 300)

Mot indicateur : Avertissement

H317 : Peut provoquer une allergie cutanée

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

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

MATÉRIEL ET ÉQUIPEMENTS NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Petits tubes à essai (par exemple des tubes microcentrifuges en plastique)
- Gants jetables
- Pipeteurs et embouts
- Écouvillons en bois
- Minuteur

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

1. Rx uniquement – Uniquement sur ordonnance
2. Uniquement à usage professionnel.
3. 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.
4. Placer tous les composants à température ambiante avant utilisation afin de garantir la bonne réactivité du kit.
5. 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.
6. Les réactifs des différents kits ne doivent pas être mélangés ou échangés. Ne pas utiliser de kit dont la date d'expiration serait dépassée.
7. Les capsules, les embouts et les compte-gouttes sont classés par couleur. Ne PAS les mélanger !

FR

- Utiliser les échantillons de selles conformément aux recommandations présentées dans le tableau ci-dessous pour obtenir des résultats optimaux. Les échantillons congelés risquent d'être moins réactifs après un cycle congélation-décongélation. Les échantillons de selles à l'état brut congelés peuvent être décongelés au maximum 5 fois. Les échantillons de selles en milieu de transport congelés ne peuvent être décongelés qu'une seule fois. Lors du stockage des échantillons, évitez de les soumettre à des températures extrêmes et mettez-les à l'abri de la lumière directe du soleil.
- 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 ».
- S'équiper de gants jetables pendant le test.
- Les réactifs du *Conjugué*, *Diluant*, *Contrôle positif* et *Tampon de lavage* contiennent 0,05 % de ProClin® 300 comme conservateur. Même si la concentration est faible, le ProClin® 300 est connu pour sa nocivité (risque de sensibilisation de la peau). En cas de sensibilisation/irritation de la peau ou d'éruption cutanée, consulter un médecin. Les vêtements contaminés doivent être ôtés puis lavés avant d'être réutilisés. Manipuler les réactifs selon les réglementations existantes relatives à la sécurité des laboratoires et les bonnes pratiques de laboratoire. Les fiches de sécurité de ce produit sont disponibles à la demande. Contacter le support technique.
- Respecter les arrêtés locaux, régionaux et nationaux relatifs aux réglementations sur l'élimination des déchets.

PRÉLÈVEMENT, MANIPULATION ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS DE SELLES

| Types d'échantillons acceptables |
|--|
| Échantillons de selles frais |
| Échantillons de selles congelés (non dilués) |
| Échantillons de selles dans un milieu de transport (par ex. Cary Blair, C&S) |

| 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) |

| Température de stockage des échantillons | Longueur de stockage acceptable | Commentaires |
|--|---------------------------------|--|
| Température ambiante (18 °C - 25 °C) | 24 heures | Les échantillons frais analysés dans les 24 heures peuvent rester à température ambiante (18 °C - 25 °C). Si le test n'est pas prévu dans les 24 heures, réfrigérer les échantillons (2°C - 8°C) le plus rapidement possible après le prélèvement. |
| Réfrigérés (2 °C - 8 °C) | 1 semaine | |

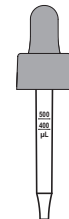
| Température de stockage des échantillons | Longueur de stockage acceptable | Commentaires |
|--|---------------------------------|---|
| Congelés à ≤ -10 °C | 7 mois | Congeler et stocker les échantillons à une température ≤ -10 °C si le test ne peut être réalisé dans un délai d'une semaine après le prélèvement. Décongélation à température ambiante. La multiplication des congélations et décongelations peut entraîner une perte d'activité de l'échantillon suite à une dégradation de l'antigène. |

- 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.
- Ne pas stocker les échantillons de selles dans le *Diluant*.

PROCÉDURE DE TEST

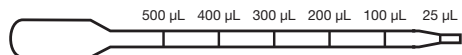
- Surveiller la durée totale de l'analyse si plusieurs échantillons de selles sont testés.
- Porter tous les réactifs et dispositifs à température ambiante avant utilisation. Éliminer les réactifs du coussin en mousse afin de réduire le temps nécessaire au réchauffement à température ambiante.
- Préparer et étiqueter un petit tube à essai pour chaque échantillon et pour chaque contrôle externe.
- À l'aide du compte-gouttes gradué gris, ajouter 500 µl (2^{ème} graduation depuis l'extrémité) de *Diluant* dans chaque tube d'échantillon frais et congelé et de contrôles externes. Pour les échantillons en milieu de transport tel qu'un Cary Blair ou un C&S, ajouter 400 µl (1^{ère} graduation depuis l'extrémité) de *Diluant* dans le tube.

| Type d'échantillon | Volume de <i>Diluant</i> |
|---|---|
| Échantillons de selles frais | 500 µl (2 ^{ème} graduation depuis l'extrémité) |
| Échantillons de selles congelés (non dilués) | 500 µl (2 ^{ème} graduation depuis l'extrémité) |
| Échantillons en milieu de transport (Cary Blair, C&S) | 400 µl (1 ^{ère} graduation depuis l'extrémité) |
| Contrôles externes (positifs et négatifs) | 500 µl (2 ^{ème} graduation depuis l'extrémité) |



- Ajouter 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 ajoutés dans tous les tubes avant les échantillons.
- Se munir d'une pipette de transfert en plastique jetable (fournie dans le kit) pour chaque échantillon.

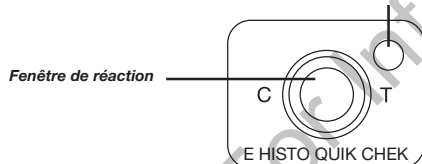
Pipette de transfert graduée :



- 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.
Échantillons en milieu de transport tel qu'un Cary Blair ou un C&S - pipeter 100 µl d'échantillon (2 gouttes depuis la pipette de transfert) dans le mélange *conjugué-échantillon*.
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 :**
Les cassettes de contrôle facultatives peuvent être analysés en même temps que les échantillons des patients.
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 renversant 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*, vérifier 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* et dans la *garniture perméable*.

- 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.** 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 incuber 10 minutes à température ambiante. Lire les résultats observés et les consigner au bout de 10 minutes.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS



Résultat positif



Résultat Négatif



Résultat invalide



Résultat invalide

- L'interprétation du test est plus fiable lorsque le dispositif est lu immédiatement à la fin de la période de réaction de 10 minutes. Lire le dispositif à une distance normale dans une pièce bien éclairée en regardant directement le dessus du dispositif à la verticale.
- Observer l'apparition d'une ligne bleue du côté « C » de la *Fenêtre de réaction* : c'est la bandelette de contrôle positif interne. Observer l'apparition d'une ligne bleue du côté « T » de la *Fenêtre de réaction* : c'est la bandelette de test. Les bandes peuvent présenter une couleur claire à foncée.
- Résultat positif : Un résultat positif peut être interprété à tout moment entre l'adjonction de *Substrat* et le temps de lecture (10 minutes). Deux lignes bleues sont visibles : la bandelette de contrôle (« C ») et la bandelette de test (« T »). Les bandes peuvent présenter une couleur claire à foncée. L'apparition d'une ligne bleue du côté « T » et d'une bandelette de contrôle bleue est interprétée comme résultat positif. Une ligne partielle évidente est interprétée comme résultat positif. La décoloration ou l'assombrissement de la membrane ne peuvent être interprétés comme résultats positifs. Un résultat positif indique la présence de *E. histolytica*.

- Résultat négatif : les tests ne peuvent pas être interprétés comme négatifs ou invalides moins de 10 minutes après l'adjonction du *Substrat*. Une ligne bleue simple est visible du côté contrôle (« C ») de la *Fenêtre de réaction* et aucune ligne de test n'est visible du côté « T » de la *Fenêtre de réaction*. Un résultat négatif indique soit l'absence d'*E. histolytica* dans l'échantillon, soit un taux inférieur à la limite de détection du test.
- Résultat invalide : Une ligne simple est visible du côté test (« T ») de la *Fenêtre de réaction* ou aucune ligne n'est visible dans la *Fenêtre de réaction*. Le résultat du test est invalide si aucune ligne de contrôle n'est visible à l'issue de la période de réaction.

CONTRÔLE DE 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 bandelette 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 bandelettes qui se développent seront clairement visibles.

Externe : La réactivité du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* doit être vérifiée dès réception à l'aide du *Contrôle positif* et du *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.
- Étant donné le faible nombre d'échantillons positifs prélevés lors de l'étude clinique prospective, l'efficacité du test de l'*E. histolytica* a également été établi à partir d'échantillons cliniques rétrospectifs.
- 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.

VALEURS MOYENNES

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*.

EFFICACITÉ DU TEST

L'efficacité du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* a été comparée à une Méthode composite de référence (MCR), qui comprenait une détection moléculaire de l'*Entamoeba histolytica*. Au total, 851 échantillons de selles ont été analysés dont 96 échantillons rétrospectifs. Les données relatives à l'âge étaient disponibles pour 851 patients. Parmi eux, 18,9 % avaient 20 ans ou moins. Les informations relatives au sexe étaient disponibles pour 851 patients, parmi lesquels 42,7 % étaient des hommes et 57,3 % des femmes. Les tableaux 1 et 2 présentent un résumé de l'efficacité clinique du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Le tableau 1 présente les résultats des échantillons prospectifs. Sur les 755 échantillons collectés préalablement, 100 ont été dilués dans des *Protocol™* Cary-Blair et *Para-Pak™* C&S. Tous les échantillons dilués dans des milieux de transport et analysés ont présenté des résultats négatifs. L'analyse prospective a démontré que le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* présentait une sensibilité de 40 % avec une spécificité de 100 %, une valeur prédictive positive de 100 % et une valeur prédictive négative de 99,6 % avec la méthode MCR. Le tableau 2 montre les résultats des échantillons rétrospectifs, qui ont démontré que le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* présentait une sensibilité et une spécificité de 100 % avec la méthode MCR.

Tableau 1. Résumé de l'efficacité clinique prospective comparant le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* aux échantillons prospectifs de la méthode de référence composite (MRC)

| N = 755 | Méthode de référence composite positive | Méthode de référence composite négative |
|--|---|---|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positif | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Négatif | 3 | 750 |
| | | Indice de confiance de 95 % |
| Sensibilité | 40,0 % | 7,3 % - 83,0 % |
| Spécificité | 100 % | 99,4 % - 100 % |
| Valeur prédictive positive | 100 % | 19,8 % - 100 % |
| Valeur prédictive négative | 99,6 % | 98,7 % - 99,9 % |

Les trois résultats faussement négatifs étaient positifs au gène *GDH* et négatif à l'antigène. Un test antigène complémentaire a été effectué avec un dispositif approuvé au préalable par la FDA.

Tableau 2. Résumé de l'efficacité clinique prospective comparant le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* aux échantillons rétrospectifs de la méthode de référence composite (MRC)

| N = 96 | Méthode de référence composite positive | Méthode de référence composite négative |
|--|---|---|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positif | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Négatif | 0 | 66 |
| | | Indice de confiance de 95 % |
| Sensibilité | 100 % | 85,9 % - 100 % |
| Spécificité | 100 % | 93,1 % - 100 % |

REPRODUCTIBILITÉ

La reproductibilité du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* a été déterminée à partir de 8 échantillons de selles codés pour éviter leur identification pendant le test. Les tests ont été effectués dans 2 laboratoires indépendants ainsi que sur le site de TECHLAB, Inc. Les échantillons incluaient 2 échantillons négatifs, 2 échantillons hautement négatifs, 2 échantillons faiblement positifs et 2 échantillons modérément positifs. Les échantillons ont été testés en triple deux fois par jour pendant 5 jours par plusieurs techniciens sur chaque site, à l'aide de 2 lots de kit 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™*.

| | | |
|---------------------------------|----------------------------------|--|
| <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> EIEC | <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> ETEC | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> |
| <i>Candida albicans</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Yersinia enterocolitica</i> |
| <i>Clostridium bifermentans</i> | <i>Salmonella typhimurium</i> | |
| Adénovirus, 2, 5, 40, 41 | Adénovirus humain 1, 3 | Entérovirus humain 69, 70, 71 |
| Coxsackievirus B5 | Coronavirus humain | Paréchovirus humain 1 |
| Échovirus 11, 18, 22, 33 | Coxsackievirus humain B2, B3, B4 | [Echovirus 22] |
| Entérovirus 68, 69 | Échovirus humain 9 | Rotavirus humain |

La réactivité croisée avec les norovirus est inconnue puisqu'elle n'a pas été testée lors des études analytiques. Néanmoins, les norovirus GI/GII ont été identifiés dans 50 échantillons cliniques à l'aide d'un test d'amplification des acides nucléiques multiplexe approuvé par la FDA lors de l'étude clinique et aucune réactivité croisée n'a été identifiée avec le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* sur ces échantillons.

En outre, le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* a été mené sur des échantillons de selles documentés comme positifs pour d'autres parasites par microscopie. Le nombre entre parenthèses représente le nombre d'échantillons cliniques dans lesquels chaque organisme a été identifié. Aucune réactivité croisée n'a été observée avec les organismes suivants.

| | | |
|---|----------------------------------|--------------------------------------|
| <i>Ascaris lumbricoides</i> et présence d'œufs (21) | <i>Entamoeba bangladeshi</i> (3) | <i>Giardia</i> spp. (45) |
| <i>Blastocystis hominis</i> (12) | <i>Entamoeba coli</i> (13) | <i>Iodamoeba bütschlii</i> (10) |
| <i>Cryptosporidium</i> spp. (30) | <i>Entamoeba moshkovskii</i> (3) | <i>Trichuris trichiura</i> œufs (11) |

ÉTUDE SPÉCIFIQUE des SOUCHES

La spécificité du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* a également été évaluée en examinant la réactivité des zymodèmes (souches) pathogènes (*Entamoeba histolytica*) et non-pathogènes (*Entamoeba dispar*) en utilisant des courbes de dilution standard. Les résultats d'*E. histolytica* se sont avérés positifs de 244 à 30,5 zymodèmes pathogènes (PZ)/ml et les résultats d'*E. dispar* se sont avérés négatifs pour toutes les dilutions commençant à 2440 zymodèmes non-pathogènes (NPZ)/ml. Le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* présente une faible réactivité avec l'*Entamoeba histolytica* et aucune réactivité croisée avec l'*Entamoeba dispar*.

En outre, 3 échantillons, aux morphologies similaires et identifiés par PCR comme positifs à l'*Entamoeba moshkovskii* et 3 positifs à l'*Entamoeba bangladeshi* ont été analysés à l'aide du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Ces 6 échantillons ont tous obtenus des résultats négatifs au test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*.

SUBSTANCES INTERFÉRENTES (formules américaines)

Les substances suivantes n'ont pas modifié le résultat positif ou négatif des tests aux concentrations indiquées ci-après : Sulfate de baryum (5 % p/v), chlorure de benzalkonium (1 % v/v), ciprofloxacine (0,25 % p/v), éthanol (1 % v/v), mucine gastrique de porc (3,5 % p/v), sang humain (40 % v/v), hydrocortisone (1 % w/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), leucocytes (0,05 % p/v), Maalox® Advanced (5 % v/v), mesalazine (10 % p/v), métronidazole (0,25 % p/v), huile minérale (10 % p/v), Mylanta® (4,2 mg/ml), sodium de naproxène (5 % p/v), nonoxynol-9 (40 % p/v), nystatine (1 % p/v), acide palmitique/grasses fécales (40 % p/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), phényléphrine (1 % p/v), glycol polyéthylénique 3350 (10 % p/v), Prilosec OTC® (5 µg/ml), sennosides (1 % p/v), siméthicone (10 % p/v), acide stérique/grasses fécales (40 % p/v), Tagamet® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), urine humaine (5 % v/v), et vancomycine (0,25 % p/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. La corrélation générale entre les résultats étaient de 100 %.

PRÉCISION – INTER-ANALYSE

Pour la détermination de l'efficacité inter-analyse, 8 échantillons de selles humaines ont été analysés avec le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Les échantillons incluaient 2 échantillons négatifs, 2 échantillons hautement négatifs, 2 échantillons faiblement positifs et 2 échantillons modérément positifs. 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 320 zymodèmes pathogènes (PZ)/ml pour l'*E. histolytica* (équivalent à 15 PZ détectés par test). Pour les échantillons dans les milieux Protocol™ Cary Blair, la LD a été établie à 275 PZ/ml pour l'*E. histolytica* (équivalent à 14 PZ détectés par test). Pour les échantillons dans les milieux Para-Pak™ C&S, la LD a été établie à 245 PZ/ml pour l'*E. histolytica* (équivalent à 12 PZ détectés par test).

ÉCHANTILLONS FRAIS OU CONGELÉS

Concernant la stabilité de l'antigène, les effets à long terme de la congélation sur les échantillons ont été évalués. Pour l'analyse, 15 échantillons de selles ont été analysés avec le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Les échantillons de selles se composaient de 3 échantillons de selles négatifs, 3 échantillons de selles hautement négatifs à l'*E. histolytica*, 3 échantillons de selles faiblement positifs à l'*E. histolytica*, 3 échantillons de selles modérément positifs à l'*E. histolytica* et 3 échantillons de selles hautement positifs à l'*E. histolytica*. Ces échantillons ont été préparés et stockés à $\leq -10^{\circ}\text{C}$ pendant 0, 1, et 4, 8, 12, 16, 20, 24 et 28 semaines. Aucune conversion d'échantillons positifs en négatifs ou d'échantillons négatifs en positifs n'a été observée sur les échantillons aux périodes indiquées.

PROZONE

Pour garantir l'absence d'interférence entre une concentration élevée d'antigène d'*E. histolytica* et une réaction positive du test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*, des échantillons élevés ont été préparés en introduisant un mélange de selles négatif à une concentration éventuellement observée dans les échantillons cliniques. Au total, 5 dilutions différentes d'antigène, inférieure ou égale à la concentration élevée observée cliniquement, ont été préparées et testées trois fois. Les résultats ont démontré l'absence d'altération prozone générale ainsi que l'absence d'altération des niveaux élevés d'antigène sur la détection de l'antigène.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

ÚČEL POUŽITÍ

Test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* vyvinutý společností TECHLAB® je rychlá membránová enzymová imunoanalýza pro kvantitativní stanovení adhezinu z *Entamoeba histolytica* v kazetě na jedno použití. Je určen k použití se vzorky lidské stolice od pacientů trpících průjemem nebo dyzentérií jakožto pomůcka v diagnostickování infekce trávicího traktu, jejímž původcem je *E. histolytica*. Výsledky testu by měly být posuzovány s ohledem na anamnézu pacienta.

PRO DIAGNOSTICKÉ POUŽITÍ IN VITRO

Pozor: Federální zákon Spojených států omezuje prodej tohoto prostředku na prodej lékařem nebo na předpis lékařem

VYSVĚTLENÍ

Entamoeba histolytica a *Entamoeba dispar* jsou střevní paraziti, kteří každoročně postihují přibližně půl miliardy lidí po celém světě (1). Je třeba rozlišovat mezi dvěma kmeny, protože *E. histolytica* je patogenní a způsobuje střevní amébiázu (např. průjem, dyzentérii, 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 diagnostickování amébiázy je mikroskopie s nativním vzorkem, která má nízkou citlivost a specifictu. 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™*, poskytují 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 linkami imobilizovaných protilátek. Testová linka (T) obsahuje monoklonální protilátky specifické pro adhezín *E. histolytica*. Kontrolní linka (C) obsahuje protilátky křívenou peroxidázy (HRP). Konjugát se skládá z protilátek *E. histolytica* navázaných na křívenou peroxidázu. K provedení testu se vzorek přidá do zkumavky obsahující směs ředícího roztoku a konjugátu. Směs zředěného vzorku a konjugátu se přidá do vzorkovací jamky a prostředek se nechá inkubovat 15 minut při pokojové teplotě. Během inkubace se veškerý adhezín *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 lince. 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 linky na straně „C“ a „T“ reakční šterbiny. Modrá linka na straně „T“ reakční šterbiny ukazuje pozitivní výsledek. Pozitivní reakce „C“, kterou ukazuje svislá modrá linka na straně „C“ reakční šterbiny, monitoruje/potvrzuje, že vzorek a reagentie byly přidány správně, reagentie byly v době provádění analýzy aktivní a vzorek správně migroval přes membránový prostředek. Rovněž potvrzuje reaktivitu dalších reagentií spojených s analýzou.

DODÁVANÉ MATERIÁLY

- MEM DEV** Membránové prostředky – Každý vāček obsahuje 1 prostředek
 - CONJ ENZ** Konjugát (2 ml) – Protílátka specifická pro *E. histolytica* navázaná na křívenou peroxidázu v pufrovém proteinovém roztoku (obsahuje 0,05% ProClin® 300)*
 - DIL SPE** Ředící roztok (16 ml) – Pufrový proteinový roztok s šedým systémem kapátka se stupnicí (obsahuje 0,05% ProClin® 300)*
 - CONTROL+** Pozitivní kontrola (1 ml) – antigen *E. histolytica* v pufrovém proteinovém roztoku (obsahuje 0,05% ProClin® 300)*
 - SUBS REAG** Substrát (3,5 ml) – Roztok obsahující tetrametylbenzidín
 - WASH REAG** Promývací pufr (12 ml) – Pufrový roztok s bílým systémem kapátka se stupnicí (obsahuje 0,05% ProClin® 300)*
- * (obsahuje 0,05% ProClin® 300)
Signální slovo: Varování
H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



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

POŽADOVANÝ MATERIÁL A VYBAVENÍ, KTERÉ NENÍ DODÁVÁNO

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

SKLADOVATELNOST 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. Pouze Rx – Pouze na předpis
2. Pouze pro odborné použití.
3. 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 prusáku.
4. Před použitím přiveďte všechny součásti k pokojové teplotě, abyste zajistili řádnou reaktivitu soupravy.
5. Reagentie substrátu by měla být bezbarvá. Pokud se reagentie substrátu změni na tmavě modrou / fialovou barvu, zlikvidujte ji, obraťte se na technické služby a požádejte o výměnu.
6. Reagentie z různých souprav se nesmějí směřovat nebo zaměřovat. Nepoužívejte soupravu po datu expirace.
7. Víčka, špičky a kapátka jsou barevně označeny; nesměšujte je ani nezaměřujte!

CS

- Abyste získali optimální výsledky, používejte vzorky stolice podle doporučení v níže uvedené tabulce. Vzorky, které jsou zmrazené, mohou ztratit reaktivitu v důsledku zmrazení a rozmrazení. Vzorky čerstvé stolice, které jsou skladovány zmrazené, se mohou rozmrazit až pětkrát. Vzorky stolice v přepravním médiu, které jsou skladovány zmrazené, se mohou rozmrazit jednou. Při skladování vzorků se vyvarujte extrémním teplotám a vyhněte se přímému slunečnímu záření.
- Test byl optimalizován na citlivost a specifitu. Změny ve specifikovaném postupu a/nebo podmínkách testu mohou ovlivnit citlivost a specifitu testu. Neodchylujte se od specifikovaného postupu.
- Vzorky stolice a použité membránové prostředky mohou obsahovat potenciálně infekční složky a je s nimi třeba zacházet v souladu s úrovní „Biologická bezpečnosti úrovně 2“, která se doporučuje v manuálu CDC/NIH (Centra pro kontrolu nemocí/Národního zdravotnického institutu) „Biologická bezpečnost v mikrobiologických a biomedicínských laboratořích“.
- Při provádění testu noste jednorázové rukavice.
- Reagencie *konjugátu*, *ředícího roztoku*, *pozitivní kontroly* a *promývacího pufru* obsahují 0,05% ProClin® 300 jako konzervační látku. I když je koncentrace nízká, je známo, že ProClin® 300 je škodlivý (může dojít k senzibilizaci pokožky). Pokud dojde k senzibilizaci / podráždění pokožky nebo vyrážce, vyhledejte lékařskou pomoc / ošetření. Kontaminovaný oděv svlékněte a před dalším použitím vyperte. S reagenciemi zacházejte v souladu s platnými předpisy pro bezpečnost a správnou laboratorní praxi. Bezpečnostní listy tohoto produktu jsou k dispozici na vyžádání, kontaktujte technickou podporu.
- V souladu s předpisy pro likvidaci odpadů dodržujte národní, regionální a místní nařízení.

ODEBÍRÁNÍ VZORKŮ STOLICE, MANIPULACE S NIMI A JEJICH SKLADOVÁNÍ

| Přijatelné typy vzorků | Nepoužívat |
|--|--|
| Čerstvé vzorky stolice | Vzorky stolice s fixační látkou na bázi formalínu (např. formalin octan sodný, 10% formalin) |
| Zmrazené vzorky stolice (zmrazené nerozpuštěné) | Vzorky stolice s fixační látkou na bázi alkoholu (např. polyvinylalkohol) |
| Vzorky stolice v transportních médiích (např. Cary Blair, C&S) | |

| Teplota při skladování vzorků | Přijatelná doba skladování | Poznámky |
|----------------------------------|----------------------------|---|
| Pokojevá teplota (18 °C – 25 °C) | 24 hodin | Vzorky čerstvé stolice, které budou testovány do 24 hodin, mohou zůstat při pokojové teplotě (18 °C – 25 °C). Pokud není testování naplánováno v době do 24 hodin, vzorky dejte zchladit (2 °C – 8 °C), co nejrychleji po odběru. |
| Chlazené (2 °C – 8 °C) | 1 týden | |
| Zmrazené ≤ -10 °C | 7 měsíců | Pokud nelze testování provést do 1 týdne od odběru, vzorky zmrazte a uložte při teplotě ≤ -10 °C. Rozmrazte při pokojové teplotě. Opakované zmrazení a rozmrazení vzorků může vést ke ztrátě aktivity vzorku v důsledku degradace antigenů. |

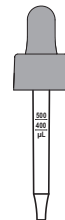
CS

- Použijte standardní interní postupy pro odběr vzorků stolice a manipulaci s ním. Odebírejte vzorky stolice do čistých nepropustných nádob.
- Neskladujte vzorky stolice v *ředícím roztoku*

ZKUŠEBNÍ POSTUP

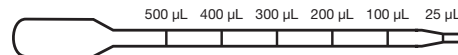
- Buďte pozorní k celkové době analýzy při testování více než jednoho vzorku stolice.
- Před použitím přiveďte všechny reagencie a prostředky k pokojové teplotě. Doporučuje se odstranit reagencie z pěnové vložky, aby se snížila doba potřebná k zahřátí na pokojovou teplotu.
- Připravte a označte jednu malou testovací zkumavku pro každý vzorek a volitelnou externí kontrolu.
- Pomocí šedého systému kapátka se stupnicí přidejte 500 µl *ředícího roztoku* (2. značka od špičky) do každé zkumavky na vzorky čerstvé a zmrazené stolice a externích kontrol. Pro vzorky v transportním médiu, jako například Cary Blair nebo C&S, přidejte 400 µl (1. značka od špičky) *ředícího roztoku* do zkumavky.

| Typ vzorku | Objem ředícího roztoku |
|---|------------------------------|
| Čerstvé vzorky stolice | 500 µl (2. značka od špičky) |
| Zmrazené vzorky stolice (zmrazené nerozpuštěné) | 500 µl (2. značka od špičky) |
| Vzorky v přepravním médiu (Cary Blair, C&S) | 400 µl (1. značka od špičky) |
| Externí kontroly (pozitivní a negativní) | 500 µl (2. značka od špičky) |



- Přidejte jednu kapku *konjugátu* (lahvička s červeným víčkem) do každé zkumavky. Držte lahvičku kapátkem 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/Polotekuté 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.

Vzorky stolice v transportních médiích Cary Blair nebo C&S – napipetujte 100 µl (2 kapky z transferové pipety) vzorku do směsi *ředícího roztoku/konjugátu*.

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.

8. Volitelné externí kontroly:

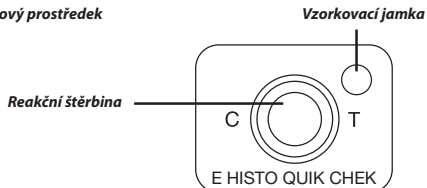
Volitelné kontrolní kazety mohou být provedeny souběžně se vzorky pacienta. **Externí pozitivní kontrola** – přidejte jednu kapku *pozitivní kontroly* (lahvička s šedým víčkem) do příslušné testovací zkumavky.

Externí negativní kontrola – přidejte 25 µl ředícího roztoku do příslušné testovací zkumavky.

9. 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*.

10. 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



11. Než přidáte *membránový prostředek*, ujistěte se, že je každý rozpuštěný vzorek důkladně promíchán (viz krok 9). **Pomocí nové transferové pipety přenešete 500 µl (horní část) z každé zkumavky do vzorkovací jamky** (menší dírka v pravém horním rohu) *membránového prostředku*. Při přidávání vzorku do *vzorkovací jamky* se ujistěte, že je špička transferové pipety uvnitř *vzorkovací jamky* a směřuje k *reakční štěrbíně* a na vsakovací vložku.
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 zcela vlhká. Pokud nedojde během 5 minut od přidání vzorku do *vzorkovací jamky* k úplnému navlhčení *reakční štěrbiny*, 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 středové reakční štěrbiny s použitím bílého systému kapátka se stupnicí.** Nechejte *promývací pufr* zcela absorbovat.
14. **Přidejte 2 kapky substrátu (lahvička s bílým víčkem) do středové reakční štěrbiny.**
15. Inkubujte 10 minut při pokojové teplotě. Po 10 minutách vizuálně odečtěte a zaznamenejte výsledky.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ



Pozitivní výsledek



Negativní výsledek



Neplatný výsledek



Neplatný výsledek

- Interpretace testu je nejspolehlivější, když je prostředek odečten na konci 10minutové reakční doby. Odečtěte prostředek z normální pracovní vzdálenosti na dobře osvětleném místě. Pozorujte přímo kolmo nad prostředkem.
- Pozorujte prostředek, zda se objeví modrá linka na straně „C“ *reakční štěrbiny*, což představuje interní pozitivní kontrolní linku. Pozorujte prostředek, zda se objeví modrá linka na straně „T“ *reakční štěrbiny*, což představuje linku testu. Linky mohou být slabé až tmavé intenzity.
- Pozitivní výsledek:** Pozitivní výsledek může být interpretován kdykoli mezi přidáním substrátu a uplynutím 10 minut na odečet. Jsou viditelné dvě modré linky, kontrolní linka („C“) a testová linka („T“). Linky mohou být slabé až tmavé intenzity. Objevení se modré linky na straně „T“ spolu s modrou kontrolní linkou je interpretováno jako pozitivní výsledek. Zjevně částečná linka je interpretována jako pozitivní výsledek. Ztrátu nebo změnu barvy membrány nelze interpretovat jako pozitivní výsledek. Pozitivní výsledek indikuje přítomnost *E. histolytica*.
- Negativní výsledek:** Test nemůže být interpretován jako negativní nebo neplatný, dokud neuplyne 10 minut po přidání *substrátu*. Jedna modrá linka je viditelná na kontrolní straně „C“ *reakční štěrbiny* a na straně „T“ *reakční štěrbiny* není viditelná žádná testová linka. Negativní výsledek indikuje, že *E. histolytica* není ve vzorku přítomný nebo je pod mezí detekce testu.
- Neplatný výsledek:** Jedna linka je viditelná na „T“ testové straně *reakční štěrbiny* nebo nejsou v *reakční štěrbíně* vidět žádné linky. Výsledek testu je neplatný, pokud není při ukončení reakční doby přítomna kontrolní linka.

KONTROLA KVALITY

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

Interní: Na straně „C“ *reakční štěrbiny* musí být viditelná svislá modrá linka na každém *membránovém prostředku*, který se testuje. To potvrzuje, že vzorek a reagence 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 linky, které se vytvoří, jsou jasně viditelné.

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

OMEZENÍ

1. Negativní výsledek testu nevylučuje možnost přítomnosti adhezinu *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.
3. Vzhledem k malému počtu pozitivních vzorků shromážděných v průběhu potenciální klinické studie byly také stanoveny funkční charakteristiky pro *E. histolytica* u retrospektivních klinických vzorků.
4. Přenesení příliš malého množství vzorku nebo nedostatečné směsení 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.

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*. Výskyt 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 homosexuálně (2, 3). Nepatogenní kmeny (*E. dispar*) převládají u mužů homosexuálně (4). Onemocnění se obvykle přenáší asymptomatickými nositeli *E. histolytica*.

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

Funkčnost testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* byla srovnávána s kombinovanou referenční metodou (CRM), což zahrnovalo molekulární detekci *Entamoeba histolytica*. Bylo vyhodnoceno celkem 851 vzorků stolice, které obsahovaly 96 retrospektivních vzorků. Informace o věku byly k dispozici u 851 pacientů. Z těchto 851 pacientů bylo 18,9 % ve věku do 20 let. Informace o pohlaví byla k dispozici u 851 pacientů a 42,7 % byli muži a 57,3 % ženy. Tabulky 1 a 2 ukazují přehled klinické funkčnosti testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Tabulka 1 obsahuje výsledky prospektivních vzorků – 755 prospektivně shromážděných vzorků, 100 z prospektivně shromážděných vzorků bylo rozpuštěno v přepravním médiu Protocol™ Cary-Blair a Para-Pak™ C&S. Všechny vzorky, které byly rozpuštěny v přepravním médiu a testovány, byly negativní. Prospektivní testování prokázalo, že test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* vykázal u CRM 40,0% citlivost, 100% specifitu a 100% pozitivní predikční hodnotu a negativní predikční hodnotu 99,6%. Tabulka 2 obsahuje výsledky retrospektivních vzorků, které prokázaly, že test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* vykázal u CRM 100% citlivost a specifitu.

Tabulka 1. Souhrn prospektivní klinické funkčnosti prospektivních vzorků při srovnání testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* s kombinovanou referenční metodou (CRM)

| N = 755 | Kombinovaná referenční metoda – pozitivní | Kombinovaná referenční metoda – negativní |
|--|---|---|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Pozitivní | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativní | 3 | 750 |

CS

| | | 95% interval spolehlivosti |
|-----------------------------|-------|----------------------------|
| Citlivost | 40,0% | 7,3% – 83,0% |
| Specifita | 100% | 99,4% – 100% |
| Pozitivní predikční hodnota | 100% | 19,8% – 100% |
| Negativní predikční hodnota | 99,6% | 98,7% – 99,9% |

Všechny tři falešně negativní výsledky byly pozitivní na PCR a negativní na antigen. Další testování antigenu bylo provedeno u dříve vyčištěného prostředku FDA.

Tabulka 2. Souhrn retrospektivní klinické funkčnosti retrospektivních vzorků při srovnání testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* s kombinovanou referenční metodou (CRM)

| N = 96 | Kombinovaná referenční metoda – pozitivní | Kombinovaná referenční metoda – negativní |
|--|---|---|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Pozitivní | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativní | 0 | 66 |

| | | 95% interval spolehlivosti |
|-----------|------|----------------------------|
| Citlivost | 100% | 85,9% - 100% |
| Specifita | 100% | 93,1% - 100% |

REPRODUKOVATELNOST

Reprodukovatelnost testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* byla určena pomocí 8 vzorků stolice, které byly zakódovány, aby se zabránilo jejich identifikaci během testování. Testování bylo provedeno ve 2 nezávislých laboratořích a přímo ve společnosti TECHLAB, Inc. Vzorky zahrnovaly 2 negativní vzorky, 2 vysoce negativní vzorky, 2 mírně pozitivní vzorky a 2 středně pozitivní vzorky. Vzorky byly testovány se třemi opakováními dvakrát denně v průběhu 5 dnů několika techniky v každém místě s pomocí 2 souprav různých šarží. 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 uvedených níže. U žádných kmenů se neprokázala interference s funkcí testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*.

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

Clostridium difficile
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Escherichia coli O157:H7
Escherichia coli EIEC
Escherichia coli EPEC
Escherichia coli ETEC
Klebsiella pneumoniae
Salmonella typhimurium

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

Adenovirus, 2, 5, 40, 41
Coxsackievirus B5
Echovirus 11, 18, 22, 33
Enterovirus 68, 69

Lidský adenovirus 1, 3
Lidský coronavirus
Lidský coxsackievirus B2, B3, B4
Lidský echovirus 9

Lidský enterovirus 69, 70, 71
Lidský parechovirus 1
[Echovirus 22]
Lidský rotavirus

Křížová reaktivita s norovirem je neznámá, protože nebyla v analytických studiích testována. Norovirus GI/GII byl zaznamenán u 50 klinických vzorků s pomocí mnohočetné analýzy NAAT s vyčištěným prostředkem FDA v průběhu klinického testování a s použitím testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* nebyla u těchto vzorků zjištěna žádná křížová reaktivita.

Navíc byl test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* proveden u vzorků stolice, u kterých byla mikroskopii ověřena pozitivita pro jiné parazity. Číslo uvedené v závorkách znamená počet klinických vzorků, v nichž byl každý organismus zjištěn. Žádná křížová reaktivita nebyla zaznamenána u následujících organismů.

Ascaris lumbricoides a s vajíčky (21)
Blastocystis hominis (12)
Cryptosporidium spp. (30)

Entamoeba bangladeshi (3)
Entamoeba coli (13)
Entamoeba moshkovskii (3)

Giardia spp. (45)
Iodamoeba bütschlii (10)
Trichuris trichiura vajíčka (11)

STUDIE SPECIFICKÁ PRO DANÝ KMEN

Specifita testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* byla vyhodnocena také otestováním reaktivity patogenních (*Entamoeba histolytica*) a nepatogenních (*Entamoeba dispar*) zymodemů (kmenů) ohledně reaktivity prostřednictvím standardní diluční metody. Výsledky *E. histolytica* byly pozitivní od 244 do 30,5 patogenních zymodemů (PZ)/ml a výsledky *E. dispar* byly negativní u všech ředění počínaje počtem 2440 nepatogenních zymodemů (NPZ)/ml. Test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* vykazuje správnou reaktivitu s *Entamoeba histolytica* a nevykazuje křížovou reaktivitu s *Entamoeba dispar*.

Kromě toho byly vzhledem k podobnosti v morfologii 3 vzorky identifikované pomocí PCR jako pozitivní na *Entamoeba moshkovskii* a 3 pozitivní na *Entamoeba bangladeshi* vyhodnoceny s pomocí testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Všechny těchto 6 vzorků bylo testováno testem *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* s negativním výsledkem.

INTERFERUJÍCÍ LÁTKY (FORMULACE USA)

Následující látky nemají žádný vliv na pozitivní nebo negativní výsledky testu, když byly analyzovány v uvedených koncentracích: Síran barnatý (5% obj. hmot.), benzalkoniumchlorid (1% obj. hmot.), Ciprofloxacín (0,25% obj. hmot.), etanol (1% obj. hmot.), prasečí žaludeční mucin (3,5% obj. hmot.), lidská krev (40% obj.), hydrokortizon (1% obj. hmot.), Imodium® (5% obj.), Kaopectate® (5% obj.), leukocyty (0,05% obj. hmot.),

Maalox® Advanced (5% obj.), mesalazin (10% obj. hmot.), metronidazol (0,25% obj. hmot.), minerální olej (10% obj. hmot.), Mylanta® (4,2 mg/ml), Naproxen sodný (5% obj. hmot.), Nonoxynol-9 (40% obj. hmot.), Nystatin (1% obj. hmot.), kyselina palmitová/tuk ze stolice (40% obj. hmot.), Pepto-Bismol® (5% obj.), Fenylefrin (1% obj. hmot.), polyetylenglykol 3350 (10% obj. hmot.), Přílošek OTC® (5 µg/ml), senosid (1% obj. hmot.), simeticon (10% obj. hmot.), kyselina stearová/tuk ze stolice (40% obj. hmot.), Tagamet® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), lidská moč (5% obj.) a Vancomycin (0,25% obj. hmot.).

PŘESNOST – INTRA-ANALÝZA

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 pětkrát 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. Celková korelace mezi výsledky byla 100%.

PŘESNOST – INTER-ANALÝZA

Ke stanovení funkčnosti inter-analýzy bylo analyzováno osm vzorků lidské stolice pomocí testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Vzorky obsahovaly 2 negativní vzorky, 2 vysoce negativní vzorky, 2 mírně pozitivní vzorky a 2 středně pozitivní vzorky. Vzorky testovale dvakrát denně ve techniku do dobu 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 (LoD) pro test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* byl stanoven v koncentraci 320 patogenních zymodemů (PZ)/ml pro *E. histolytica* (rovnající se 15 PZ zjištěných v testu). Pro vzorky v médiu Protocol™ Cary Blair byl LoD stanoven na 275 PZ/ml pro *E. histolytica* (rovnající se 14 PZ zjištěných v testu). Pro vzorky v médiu Para-Pak® C&S byl LoD stanoven na 245 PZ/ml pro *E. histolytica* (rovnající se 12 PZ zjištěných v testu).

ČERSTVÉ VERSUS ZMRAZENÉ VZORKY

Byl vyhodnocen důsledek dlouhodobě skladovaného zmrazeného vzorku na stabilitu antigenu. Pro účely analýzy bylo s použitím testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* otestováno 15 vzorků stolice. Vzorky stolice obsahovaly 3 negativní vzorky stolice, 3 vzorky stolice s vysoce negativním výsledkem testu *E. histolytica*, 3 vzorky stolice s mírně pozitivním výsledkem testu *E. histolytica*, 3 vzorky stolice se středně pozitivním výsledkem testu *E. histolytica* a 3 vzorky stolice s vysoce pozitivním výsledkem testu *E. histolytica*. Vzorky byly připraveny a skladovány při teplotě ≤ -10 °C po dobu 0, 1 a 4, 8, 12, 16, 20, 24 a 28 týdnů. U žádného ze vzorků nebyla v žádném z určených časových bodů zaznamenána žádná konverze pozitivního do negativního nebo negativního do pozitivního výsledku.

PROZONA

Aby vysoká koncentrace antigenu *E. histolytica* nenarušovala pozitivní reakci v testu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*, byly připraveny vysoké vzorky s přidáním negativní stolice v koncentraci, která může být pozorována u klinických vzorků. Bylo připraveno a ve třech opakovaných testování celkem pět různých ředění antigenu až po klinicky pozorovanou vysokou koncentraci. Výsledky ukázaly, že neexistuje žádný celkový prozonný efekt a že zvýšené hladiny antigenu neovlivňují detekci antigenu.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

TILSIGTET ANVENDELSE

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™-testen er en hurtig membran-enzym-immunassay til kvalitativ påvisning af adhæsin fra *Entamoeba histolytica* i en kassette til engangsbrug. Den er beregnet til anvendelse med humane fæcesprøver fra patienter med diare eller dysenteri som et hjælpemiddel til diagnosticering af gastrointestinal infektioner, der skyldes *E. histolytica*. Testresultaterne skal vurderes i sammenhæng med patientens sygehistorie.

TIL IN VITRO DIAGNOSTISK BRUG

Vigtigt: Ifølge amerikansk lovgivning må denne anordning kun sælges af eller på ordning af en læge.

FORKLARING

Entamoeba histolytica og *Entamoeba dispar* er intestinale parasitter, som årligt inficerer omtrent en halv milliard mennesker på verdensplan (1). Det er nødvendigt at skelne mellem de to arter, fordi *E. histolytica* er patogen og forårsager intestinal amøbiase (f.eks. diare, dysenteri, kolit) og ekstraintestinal amøbiase (f.eks. leverabsces). *E. dispar* er ikke forbundet med symptomatiske sygdomme og en unøjagtig diagnose kan resultere i unødvendig behandling. Den mest almindelige metode til diagnosticering af amøbiase har været mikroskopi af våde præparater, hvilket er forbundet med ringe følsomhed og specificitet. Trofozoitter og cyster er ikke nemme at identificere i en enkelt fæcesprøve, og det er vanskeligt at skelne visuelt mellem *E. dispar* og *E. histolytica*, når de observeres. Påvisning af *Entamoeba spp.* med en immunassay er en alternativ diagnosemetode med større følsomhed (2). Immunassays, der er specifikke for *E. histolytica*, såsom testen E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™, har derudover den fordel, at de kun identificerer infektioner med *E. histolytica*. Store antal prøver kan testes hurtigt og objektivt, og proceduren er mindre arbejdsintensiv end de fleste andre diagnosemetoder.

TESTPRINCIP

Testen E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ bruger antistoffer, der er specifikke for *E. histolytica*. Membranenheder indeholder et reaktionsvindue med to lodrette linjer af immobiliserede antistoffer. Testlinjen ("T") indeholder monoklonale antistoffer, der er specifikke for *E. histolytica*-adhæsin. Kontrollinjen ("C") indeholder antistoffer over for peberrodsperoxidase (HRP). Konjugatet består af antistoffer over for *E. histolytica* koblet til peberrodsperoxidase. For at udføre 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 inkubationen binder eventuel *E. histolytica*-adhæsin i prøven til antistof-peroxidase-konjugaterne. Antigen-antistof-konjugatkomplekserne vandrer igennem en filterpude til en membran, hvor de opfanges af de immobiliserede anti-adhæsin-antistoffer i linjen. Reaktionsvinduet vaskes efterfølgende med *vaskebuffer* efterfulgt af tilsætning af *substrat*. Efter en inkubationsperiode på 10 minutter undersøges reaktionsvinduet visuelt for forekomst 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, hvilket indikeres ved en lodret blå linje på "C"-siden af reaktionsvinduet, kontrollerer/bekræfter, at prøven og reagenserne blev tilsat korrekt, at reagenserne var aktive på det tidspunkt analysen blev gennemført, og at prøven vandrede korrekt igennem membranenheden. Det bekræfter desuden reaktiviteten af de andre reagenser, der er associeret med analysen.

DA

LEVEREDE MATERIALER

MEM DEV

Membranenheder – hver pose indeholder 1 enhed

CONJ ENZ

Konjugat (2 ml) – antistof, der er specifikt for *E. histolytica* koblet til peberrodsperoxidase i en proteinløsning tilsat buffer (indeholder 0,05 % ProClin® 300)*

DIL SPE

Diluent (16 ml) – proteinløsning tilsat buffer med grå målepipette (indeholder 0,05 % ProClin® 300)*

CONTROL +

Positiv kontrol (1 ml) – *E. histolytica*-antigen i en proteinløsning tilsat buffer (indeholder 0,05 % ProClin® 300)*

SUBS REAG

Substrat (3,5 ml) – opløsning indeholdende tetramethylbenzidin

WASH REAG

Vaskebuffer (12 ml) – opløsning tilsat buffer med hvid målepipette (indeholder 0,05 % ProClin® 300)*



* (indeholder 0,05 % ProClin® 300)

Signalord: Advarsel

H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion.

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

Plastpipetter til engangsbrug (50) – skalinddeling ved 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl og 500 µl

NØDVENDIGE MATERIALER OG Udstyr som IKKE MEDFØLGER

Små prøveglas (f.eks. mikrocentrifugerør af plast)

Applikatorpinde af træ

Engangshandsker

Pipetter og spidser

Timer

HOLDBARHED OG OPBEVARING

Udløbsdatoen for kittet er tryk på kitæskens etiket. Opbevar kittet mellem 2 °C og 8 °C. Sæt kittet tilbage i køleskabet så hurtigt som muligt efter brug.

SIKKERHEDSFORANSTALTNINGER

1. Rx Only – kun på recept
2. Kun til professionel brug.
3. Ved ankomsten skal kittet efterseres for at sikre, at komponenterne ikke er frosne eller varme ved berøring som følge af ukorrekte forsendelsesforhold, samt at der ikke er tegn på lækage.
4. Lad alle komponenter få rumtemperatur før brug for at sikre korrekt reaktivitet af kittet.
5. *Substrat*-reagenset skal være farveløs. Hvis *substrat*-reagenset ændrer sig til en mørkeblå/violet farve, skal det kasseres og teknisk service skal tilkaldes med henblik på udskiftning.
6. Reagenser fra forskellige kit må ikke blandes eller ombyttes. Et kit må ikke anvendes efter udløbsdatoen.
7. Hætter, spidser og pipetteenheder er farvemærkede og må IKKE blandes eller ombyttes!
8. Fæcesprøverne skal anvendes i henhold til anbefalingerne i nedenstående tabel for at opnå optimale resultater. Prøver, som fryses, kan miste reaktivitet som følge af nedfrysning og optøning. Friske fæcesprøver, der fryses ned med henblik på opbevaring, kan optas op til 5 gange.

- Fæcesprøver i transportmedier, der fryses med henblik på opbevaring, kan optes én gang. Undgå ekstreme temperaturer og direkte sollys ved opbevaring af prøverne.
- Testen er optimeret med hensyn til følsomhed og specificitet. Ændringer af den angivne procedure og/eller af testforhold kan påvirke testens følsomhed og specificitet. 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.
 - Konjugat-, diluent-, positive kontrol- og vaskebuffer-*reagenser indeholder 0,05% ProClin® 300 som konserveringsmiddel. Selvom koncentrationen er lav, er det kendt, at ProClin® 300 er skadeligt (hudsensibilisering kan forekomme). I tilfælde af hudsensibilisering/hudirritation eller udslet, skal der søges læge. Tag forurenede tøj af, og vask det, før det bruges igen. Reagenserne skal håndteres i henhold til de gældende bestemmelser for laboratorie sikkerhed og god laboratoriepraksis. Sikkerhedsdatablade for dette produkt fås ved forespørgsel, kontakt teknisk support.
 - Følg de nationale, regionale og lokale forordninger vedrørende bortskaffelse af affald.

INDSAMLING, HÅNTERING OG OPBEVARING AF FÆCESPRØVER

| Acceptable prøvetyper |
|--|
| Friske fæcesprøver |
| Frosne fæcesprøver (frosset ufortyndet) |
| Fæcesprøver i transportmedier (f.eks. Cary Blair, C&S) |

| Brug ikke |
|--|
| Fæcesprøver i formalinbaseret fiksativ (f.eks. natriumacetatformalin, 10 % formalin) |
| Fæcesprøver i alkoholbaseret fiksativ (f.eks. polyvinylalkohol) |

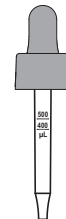
| Temperatur ved prøveopbevaring | Acceptabel opbevaringstid | Kommentarer |
|--------------------------------|---------------------------|---|
| Rumtemperatur (18 °C - 25 °C) | 24 timer | Friske prøver, der vil blive testet inden for 24 timer, kan opbevares ved rumtemperatur (18 °C - 25 °C). Hvis der ikke er planlagt testning inden for <24 timer, skal prøverne anbringes i køleskabet (2 °C - 8 °C) så hurtigt som muligt efter indsamlingen. |
| I køleskabet (2 °C - 8 °C) | 1 uge | |
| Frosset ≤ -10 °C | 7 måneder | Prøverne skal fryses og opbevares ved ≤ -10 °C, hvis testningen ikke kan finde sted inden for 1 uge efter indsamlingen. Optos ved rumtemperatur. Nedfrysning og optoning flere gange kan resultere i tab af prøveaktivitet som følge af antigenedbrydning. |

- Følg standardindsamlings- og håndteringsprocedurer, der anvendes internt til fæcesprøver. Fæcesprøver skal indsamles i rene, tætte beholdere.
- Fæcesprøver må ikke opbevares i *diluenten*.

TESTPROCEDURE

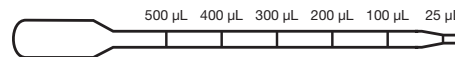
- Vær opmærksom på den totale analysetid, når der testes mere end en fæcesprøve.
- Lad alle reagenser og enheder få rumtemperatur før brug. Fjern reagenserne fra skumindsatsen for at reducere den tid, der er nødvendig for at opvarme dem til rumtemperatur.
- Klargør og mærk ét lille prøveglas for hver prøve og en valgfri ekstern kontrol.
- Brug den grå pipette til at tilsætte 500 µl *diluent* (2. skalainddeling fra spidsen) i hvert glas for friske og frosne prøver og eksterne kontroller. For prøver i transportmedier såsom Cary Blair eller C&S tilsættes 400 µl (1. skalainddeling fra spidsen) *diluent* til glasset.

| Prøvetype | Diluent-volumen |
|--|--|
| Friske fæcesprøver | 500 µl (2. skalainddeling fra spidsen) |
| Frosne fæcesprøver (frosset ufortyndet) | 500 µl (2. skalainddeling fra spidsen) |
| Prøver i transportmedier (Cary Blair, C&S) | 400 µl (1. skalainddeling fra spidsen) |
| Eksterne kontroller (positive og negative) | 500 µl (2. skalainddeling fra spidsen) |



- Tilsæt én dråbe **konjugat (flaske med rød hætte)** til hvert glas. Hold pipetteflasken lodret for at sikre korrekt dråbestørrelse. *Diluenten* og *konjugatet* skal tilsættes til alle glas, inden prøverne tilsættes.
- Brug én transferpipette af plast til engangsbrug (følger med kittet) til hver prøve.

Skalainddelt transferpipette:



- For flydende/halvfaste prøver** - bland prøven grundigt. Brug en transferpipette til at tilsætte 25 µl prøve til *diluent/konjugat*-blandingen i glasset.

For formede/faste prøver - bland prøven grundigt med en applikatorpind af træ, og overfør en lille del (omtrent 2 mm i diameter, svarende til 25 µl) af prøven til *diluent/konjugat*-blandingen. Emulger prøven ved hjælp af applikatorpinden.

Fæcesprøver i Cary Blair- eller C&S-transportmedier - tilsæt 10 µl (to dråber fra transferpipetten) prøve i *diluent/konjugat*-blandingen.

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 resultat. Tilsætning af for meget prøve kan medføre ugyldige resultater som følge af begrænset flow.

8. Valgfrie eksterne kontroller:

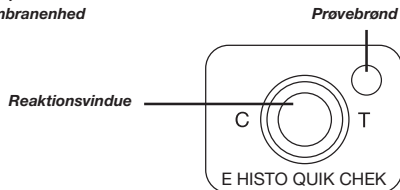
Valgfrie kontrolkassetter kan køres sideløbende med patientprøver.

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.

9. Luk glasset for alle test- og kontrolprøver, og bland grundigt med en vortex-mikser eller ved at vende glasset på hovedet flere gange. Prøver eller kontroller, der er fortyndet i *diluent/konjugat*-blandingen kan inkuberet ved rumtemperatur i op til 2 timer, inden de tilsættes til *membranenheden*.
10. Åbn én pose med en *membranenhed* ved rumtemperatur for hver fortyndet prøve og eksterne kontrol (efter behov). Mærk hver enhed behørigt, og anbring den på et plant underlag, så det trykke "E HISTO QUIK CHEK" er nedest på enheden, og så den lille *prøvebrønd* befinder sig i øverste højre hjørne af enheden.

Membranenhed



11. Sørg for, at hver fortyndet prøve er blandet grundigt (se trin 9), inden den tilsættes til *membranenheden*. **Brug en ny transferpipette til at overføre 500 µl (den øverste skalaanddeling) fra hvert glas til *prøvebrønden* (det mindste hul i det øverste højre hjørne af enheden) på en *membranenheden*.** Når prøven tilsættes til *prøvebrønden*, skal det sikres, at spidsen af transferpipetten er inde i *prøvebrøndshullet*, og at den er vinklet hen mod *reaktionsvinduet* og på *puden* med vægeffektivitet.
12. **Inkuber enheden 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 PRØVER, HVOR VANDRING MISLYKKE:** Nu og da vandrer en fortyndet prøve ikke rigtigt, 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 *prøvebrønden*, tilsættes 100 µl (4 dråber) *diluent* til *prøvebrønden*. Vent yderligere 5 minutter (i alt 20 minutter). Fortsæt med det næste trin i testproceduren.
13. **Efter inkuberingen tilsættes 300 µl vaskbuffer til det midterste *reaktionsvindue* ved hjælp af den hvide målepipette.** Lad *vaskbufferen* blive absorberet fuldstændigt.
14. **Tilsæt 2 dråber *substrat* (flaske med hvid hætte) til det midterste *reaktionsvindue*.**
15. Inkuber i 10 minutter ved rumtemperatur. Aflæs resultaterne visuelt, og dokumenter dem efter 10 minutter.

TOLKNING AF RESULTATER



Positivt resultat



Negativt resultat



Ugyldigt resultat



Ugyldigt resultat

- Tolkning af testen er mest pålidelig, når enheden aflæses ved slutningen af reaktionsperioden på 10 minutter. Aflæs enheden i normal arbejdsafstand i et godt oplyst område. Se på den med en sigtelinje lige over enheden.
- lagtag enheden med henblik på fremkomst af en blå linje på "C"-siden af *reaktionsvinduet*, som repræsenterer den interne positive kontrollinje. lagtag enheden med henblik på fremkomst af en blå linje på "T"-siden af *reaktionsvinduet*, som repræsenterer testlinjen. Linjernes intensitet kan fremstå som svag til mørk.
- Positivt resultat: Et positivt resultat kan tolkes på et hvilket som helst tidspunkt mellem tilsætningen af *substrat* og den 10-minutters aflæsningsetid. To blå linjer er synlige, kontrollinjen ("C") og testlinjen ("T"). Linjernes intensitet kan fremstå som svag til mørk. Forekomsten af en blå linje på "T"-siden sammen med en blå kontrollinje tolkes som et positivt resultat. En tydeligt partiel linje tolkes som et positivt resultat. Membrannisfarvning eller -skygger må ikke tolkes som et positivt resultat. Et positivt resultat indikerer forekomst af *E. histolytica*.
- Negativt resultat: En test kan ikke tolkes som negativ eller ugyldig før 10 minutter efter tilsætningen af *substrat*. En enkelt blå linje er synlig på kontrolsiden ("C") af *reaktionsvinduet*, der kan ikke ses nogen testlinje på "T"-siden af *reaktionsvinduet*. Et negativt resultat indikerer, at der ikke er *E. histolytica* i prøven, eller at det er under testens detektionsgrænse.
- Ugyldigt resultat: En enkelt linje er synlig på testsiden ("T") af *reaktionsvinduet*, eller der kan ikke ses nogen linjer i *reaktionsvinduet*. Testresultatet er ugyldigt, hvis der ikke findes en kontrollinje ved afslutningen af reaktionsperioden.

KVALITETSKONTROL

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

Intern: Der skal ses en lodret blå kontrollinje på "C"-siden af *reaktionsvinduet* på hver *membranenhed*, som testes. Dette bekræfter, at prøven og reagenserne blev tilsat korrekt, og at de reagerede korrekt i analysen. En klar baggrund i resultatområdet betragtes om en intern negativ kontrol. Den kan fremstå hvid til lyseblå, og alle forekommende linjer er tydelige.

Ekstern: Reaktiviteten af testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* skal verificeres ved modtagelsen ved hjælp af den positive kontrol og den 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 er *E. histolytica*-adhæsin i prøven, hvilket kan være tilfældet, hvis antigniveauet er under testens detektionsgrænse.
2. Testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* er kvalitativ. Farveintensiteten må ikke tolkes kvantitativt.
3. På grund af det lille antal positive prøver, der blev indsamlet i forbindelse med den prospektive kliniske undersøgelse, blev funktionskarakteristikkerne for *E. histolytica* også bestemt med retrospektive kliniske prøver.
4. 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 resultat. Tilsætning af for meget prøve kan medføre ugyldige resultater som følge af begrænset flow.

FORVENTEDE VÆRDIER

Normale sunde personer bør ikke være inficerede med *E. histolytica*. Deres resultat af testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* bør være negativt. Et positivt resultat af testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* indikerer, at personen udskiller påviselige mængder *E. histolytica*-antigen. Incidensen af *E. histolytica*-infektion varierer mellem forskellige populationer og geografiske områder. Det anslås, at *Entamoeba histolytica* inficerer omtrent 50 millioner mennesker på global plan (2). Omtrent 90 % af disse personer forbliver symptomløse, og omtrent 10 % udvikler kliniske symptomer spændende fra gastrointestinale sygdomme til leverabscesser. Højrisikogrupper omfatter personer, som har rejst i udlandet, immigranter, immunsvækkede personer, migrantarbejdere og aktive mandlige homoseksuelle (2, 3). Ikke-patogene stammer (*E. dispar*) er fremtrædende blandt mandlige homoseksuelle (4). Sygdommen overføres ofte af symptomløse smittebærere af *E. histolytica*.

FUNKTIONSKARAKTERISTIKA

Funktionen af testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* blev sammenlignet med med en CRM (Composite Reference Method), som inkluderer molekylær påvisning af *Entamoeba histolytica*. Der blev evalueret i alt 851 fæcesprøver, som inkluderede 96 retrospektive prøver. Der forelå aldersoplysninger om 851 patienter. Af de 851 patienter var 18,9 % ≤ 20 år. Der forelå oplysninger om kønnet på 851 patienter. 42,7 % var mandlige og 57,3 % var kvindelige. Tabel 1 og 2 viser en oversigt over den kliniske funktion af testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Tabel 1 repræsenterer resultaterne for de prospektive prøver. Af de 755 prospektivt indsamlede prøver blev 100 prospektivt indsamlede prøver fortyndet i Protocol™ Cary-Blair og Para-Pak® C&S. Alle prøver, der blev fortyndet i transportmedier, testede negativt. Den prospektive testning viste, at testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* havde en følsomhed på 40,0 %, med en specificitet på 100%, en forudsigtelig positiv værdi på 100 % og en forudsigtelig negativ værdi på 99,6 % med CRM-referencemetoden. Tabel 2 repræsenterer resultaterne for de retrospektive prøver, som viste, at testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* udviste en følsomhed og specificitet på 100 % med CRM-referencemetoden.

Tabel 1 Oversigt over den prospektive kliniske funktion ved sammenligning af testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* med de prospektive prøver i CRM-referencen (Composite Reference Method)

| N = 755 | Positive ved CRM | Negative CRM |
|--|------------------|--------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positiv | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativ | 3 | 750 |

| | | 95 % konfidensgrænser |
|-------------------------|-------|--------------------------|
| Følsomhed | 40,0% | 7,3% - 83,0% |
| Specificitet | 100% | 99,4% - 100% |
| Prædiktiv positiv værdi | 100% | 19,8% - 100% |
| Prædiktiv negativ værdi | 99,6% | 98,7% - 99,9% |

Alle tre af de falske negative resultater var positive for PCR og negative for antigen. Yderligere antigen-testning blev udført med en tidligere godkendt FDA-enhed.

Tabel 2 Oversigt over den retrospektive kliniske funktion ved sammenligning af testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* med de retrospektive prøver i CRM-referencen (Composite Reference Method)

| N = 96 | Positive ved CRM | Negative CRM |
|--|------------------|--------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positiv | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativ | 0 | 66 |

| | | 95 % konfidensgrænser |
|--------------|------|--------------------------|
| Følsomhed | 100% | 85,9% - 100% |
| Specificitet | 100% | 93,1% - 100% |

REPRODUCERBARHED

Reproducerbarheden af testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* blev bestemt ved brug af 8 fæcesprøver, som blev kodet for at forhindre identifikation af dem under testning. Testningen blev udført på 2 uafhængige laboratorier og internt hos TECHLAB, Inc. Prøverne omfattede 2 negative prøver, 2 højnegative prøver, 2 lavpositive prøver og 2 moderat positive prøver. Prøverne blev testet i triplikat to gange om dagen i løbet af en periode på 5 dage af flere teknikere på hvert laboratorium ved hjælp af to forskellige kitpartier. En positiv og negativ kontrol blev kørt med hvert panel af de kodede prøver. Resultaterne fra hvert laboratorium blev indsendt til TECHLAB, Inc. og sammenlignet med de interne resultater. Resultaterne var ensartede for de forskellige laboratorier og udviste en korrelation på 100 %. Prøverne frembragte de forventede resultater 100 % af tiden.

KRYDSREAKTIVITET

Testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* blev evalueret for krydsreaktivitet med de bakterie- og virusstammer, der er anført nedenfor. Ingen af stammerne havde nogen påviselig indflydelse på funktionen af testen *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> O157:H7 | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| <i>Campylobacter coli</i> | <i>Escherichia coli</i> E1EC | <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> ETEC | <i>Vibrio parahæmolyticus</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 | Humant parechovirus 1 |
| Echovirus 11, 18, 22, 33 | Humant coxsackievirus B2, B3, B4 | [Echovirus 22] |
| Enterovirus 68, 69 | Humant echovirus 9 | Humant rotavirus |

Krydsreaktivitet med norovirus er ukendt, idet dette ikke er blevet testet i analytiske undersøgelser. Norovirus GI/GII blev dog identificeret i 50 kliniske prøver ved brug af en FDA-godkendt multiplex NAAT-assay i forbindelse med klinisk testning, og der blev ikke fundet nogen krydsreaktivitet ved brug af *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* i disse prøver.

Derudover blev testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* kørt på fæcesprøver, der ved mikroskopi var dokumenteret positive for andre parasitter. Tallet i parentes er antallet af kliniske prøver, hvor hver organisme blev identificeret. Der blev ikke observeret nogen krydsreaktivitet med følgende organismer.

| | | |
|--|----------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Ascaris lumbricoides</i> og med æg (21) | <i>Entamoeba bangladeshi</i> (3) | <i>Giardia</i> spp. (45) |
| <i>Blastocystis hominis</i> (12) | <i>Entamoeba coli</i> (13) | <i>Iodamoeba bütschlii</i> (10) |
| <i>Cryptosporidium</i> spp. (30) | <i>Entamoeba moshkovskii</i> (3) | <i>Trichuris trichiura</i> -æg (11) |

STAMMESPECIFIK UNDERSØGELSE

Specificiteten af testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* blev også evalueret ved undersøgelse af reaktiviteten af patogene (*Entamoeba histolytica*) og ikke-patogene (*Entamoeba dispar*) zymodemer (stammer) for reaktivitet ved en standard fortyndingskurve. *E. histolytica*-resultaterne var positive fra 244 til 30,5 patogene zymodemer (PZ'er)/ml, og *E. dispar*-resultaterne var negative ved alle fortyndinger fra 244 til ikke-patogene zymodemer (NPZ'er)/ml. Testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* påviser korrekt reaktivitet med *Entamoeba histolytica* og udviser ikke nogen krydsreaktivitet med *Entamoeba dispar*.

Grundet den sammenlignelige morfologi blev der også evalueret 3 prøver, der ved PCR var blevet identificeret som positive for *Entamoeba moshkovskii*, og 3 der var positive for *Entamoeba bangladeshi*, ved brug af testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Disse 6 prøver testede alle negativt i testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*.

DA

FORSTYRRENDE STOFFER (USA-FORMULERING)

Følgende stoffer havde i de anførte koncentrationer ingen indflydelse på positive eller negative testresultater af analysen: Bariumsulfat (5 % v/v), benzalkonchlorid (1 % w/v), ciprofloxacin (0,25 % w/v), ethanol (1 % w/v), gastrisk mucin fra grise (3,5 % w/v), humant blod (40 % v/v), hydrocortison (1 % w/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), leukocytter (0,05 % w/v), Maalox® Advanced (5 % v/v), mesalazin (10 % w/v), metronidazol (0,25 % w/v), mineralolie (10 % w/v), Mylanta® (4,2 mg/ml), naproxennatrium (5 % w/v), nonoxynol-9 (40 % w/v), nystatin (1 % w/v), palmitinsyre/fælkalt fedt (40 % w/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), phenylephrin (1 % w/v), polyethylenglycol 3350 (10 % w/v), Pilosec OTC® (5 µg/ml), sennosider (1 % w/v), simethicon (10 % w/v), stearynsyre/fælkalt fedt (40 % w/v), Tagamet® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), human urin (5 % v/v) og vancomycin (0,25 % w/v).

PRÆCISION – INTRA-ASSAY

Med henblik på at bestemme funktionen intra-assay blev tolv humane fæcesprøver analyseret med testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. 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 den samme test ved brug af to forskellige kitpartier. En positiv og negativ kontrol blev kørt med hvert panel. Alle positive prøver forblev positive, og alle negative prøver forblev negative. Den samlede korrelation mellem resultaterne var 100 %.

PRÆCISION – INTER-ASSAY

Med henblik på at bestemme funktionen inter-assay blev otte humane fæcesprøver analyseret med testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Prøverne omfattede 2 negative prøver, 2 højpositive prøver, 2 lavpositive prøver og 2 moderat positive prøver. Prøverne blev testet to gange om dagen af flere teknikere i løbet af en periode på 12 dage ved brug af 2 forskellige kitpartier. En positiv og negativ kontrol blev kørt hver dag. Alle positive prøver forblev positive, og alle negative prøver forblev negative.

ANALYSEFØLSOMHED

Detektionsgrænsen (LoD) for testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* blev bestemt ved 320 patogene zymodemer (PZ'er)/ml for *E. histolytica* (svarende til påvisning af 15 PZ'er pr. test). For prøver i Protocol™ Cary Blair-medier blev detektionsgrænsen bestemt ved 275 PZ'er/ml for *E. histolytica* (svarende til påvisning af 14 PZ'er pr. test). For prøver i Para-Pak® C&S-medier blev detektionsgrænsen bestemt ved 245 PZ'er/ml for *E. histolytica* (svarende til påvisning af 12 PZ'er pr. test).

FRISKE VERSUS FROSE PRØVER

Effekten af længere tids opbevaring af frose prøver med henblik på antigenstabiliteten blev evalueret. Til analysen blev der testet i alt 15 fæcesprøver med testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Fæcesprøverne bestod af 3 negative fæcesprøver, 3 *E. histolytica* højpositive fæcesprøver, 3 *E. histolytica* lavpositive fæcesprøver, 3 *E. histolytica* moderate positive fæcesprøver og 3 *E. histolytica* højpositive fæcesprøver. Prøverne blev klargjort og opbevaret ≤ -10 °C i uge 0, 1, og 4, 8, 12, 16, 20, 24 og 28. Der blev ikke observeret nogen konvertering af positiv-til-negativ eller negativ-til-positiv i nogen af prøverne på de anførte tidspunkter.

PROZONE

For at sikre at en høj koncentration af *E. histolytica*-antigen ikke påvirker en positiv reaktion i testen *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*, blev høje prøver klargjort ved spiking af en negativ fæcespool ved en koncentration, der muligvis kunne observeres i kliniske prøver. I alt 5 forskellige fortyndinger af antigenet, op til og inklusive den klinisk observerede høje koncentration, blev klargjort og testet i triplikat. Resultaterne viste, at der ikke var nogen overordnet prozoneeffekt, samt at øgede antigeniveauer ikke påvirkede påvisningen af antigenet.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

ΕΝΔΕΔΙΓΜΕΝΗ 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 κασέτα 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.

ΓΙΑ *IN VITRO* ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ

Προσοχή: Η ομοσπονδιακή νομοθεσία των Η.Π.Α επιτρέπει την πώληση της συσκευής από ιατρό ή μόνο με την εντολή ιατρού

ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ

Η *Entamoeba histolytica* και η *Entamoeba dispar* είναι εντερικά παράσιτα τα οποία μολύνουν περίπου μισό δισεκατομμύριο ανθρώπους 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, κολίτιδα) 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 νυπτού παρασκευασματος, 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 γραμμική εξέταση ("T") περιέχει μονόκλωνα αντισώματα ειδικά για την προσκολλητίνη της *E. histolytica*. Η γραμμική 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 ένα ωχλήνα 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 επώασης, η προσκολλητίνη της *E. histolytica* που τυχόν περιέχεται στο δείγμα δεσμεύεται στο σύζευγμα αντισωμάτων-υπεροξειδάσης. Τα σύμπλοκα αντιγόνου-αντισωμάτων-υπεροξειδάσης μετακινούνται μέσω ενός φίλτρου που 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 εμφάνιση κατακόρυφων μπλε γραμμών 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 το 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 θύλακα περιέχει 1 συσκευή
- CONJ / ENZ** Σύζευγμα (2 mL) – Αντίσωμα ειδικό για την *E. histolytica* συζευγμένο με υπεροξειδάση από ραφανίδα σε ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεΐνης (περιέχει 0,05% ProClin® 300)*
- DIL / SPE** Αραιωτικό (16 mL) – Ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεΐνης με γκρι διαβαθμισμένο σταγονόμετρο (περιέχει 0,05% ProClin® 300)*
- CONTROL +** Θετικός όρος ελέγχου (1 mL) – Αντίγωνο *E. histolytica* ρυθμιστικό διάλυμα πρωτεΐνης (περιέχει 0,05% ProClin® 300)*
- SUBS / REAG** Υπόστρωμα (3,5 mL) – Διάλυμα που περιέχει τετραμεθυλοβενζιδίνη
- WASH / REAG** Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης (12 mL) – Ρυθμιστικό διάλυμα με λευκό διαβαθμισμένο σταγονόμετρο (περιέχει 0,05% ProClin® 300)*



* (περιέχει 0,05% ProClin® 300)
Προειδοποιητική λέξη: Προειδοποίηση
H317: Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

Πλαστικές πιπέτες μίας χρήσης (50) – Διαβαθμισμένες στα 25 μL, 100 μL, 200 μL, 300 μL, 400 μL και 500 μL

ΑΠΑΙΤΟΥΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΠΟΥ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Μικροί δοκιμαστικοί σωλήνες (π.χ. πλαστικοί σωλήνες μικροφυνοκέντρησης)
- Ξύλινα ραβδία εφαρμογής
- Γάντια μίας χρήσης
- Σύστημα πιετών και ρύγχη
- Χρονόμετρο

ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΧΡΗΣΗΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ

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

ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ

1. Μόνο κατόπιν συνταγής ιατρού
2. Μόνο για επαγγελματική χρήση.
3. Κατά την παραλαβή, ελέγξτε το κιτ για να βεβαιωθείτε ότι τα συστατικά δεν είναι παγωμένα ή θερμά στην αφή λόγω ακατάλληλων συνθηκών αποστολής και ότι δεν υπάρχουν ενδείξεις διαρροής.

EL

- Φέρτε όλα τα συστατικά σε θερμοκρασία δωματίου πριν από την 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 σύμφωνα με τις συστάσεις του παρακάτω πίνακα για να επιτύχετε τα βέλτιστα αποτελέσματα. Τα δείγματα που έχουν καταψυχθεί ενδέχεται να χάσουν την αντιδραστικότητά τους λόγω της ψύξης και της απόψυξης. Τα ακατέργαστα δείγματα κοπράνων που φλάσσονται κατεψυγμένα μπορούν να αποψυχθούν έως και 5 φορές. Τα δείγματα κοπράνων σε υλικά μεταφοράς που φλάσσονται κατεψυγμένα μπορούν να αποψυχθούν μία φορά. Κατά τη φύλαξη δειγμάτων, αποφύγετε ακραίες θερμοκρασίες και κρατήστε τα δείγματα μακριά από το άμεσο ηλιακό φως.
- Η εξέταση έχει βελτιστοποιηθεί για τη επίτευξη ευαισθησίας και ειδικότητας. Τυχόν τροποποιήσεις της καθορισμένης διαδικασίας ή/και των συνθηκών της εξέτασης ενδέχεται να επηρεάσουν την ευαισθησία και την ειδικότητα της εξέτασης. Μην αποκλίετε από την καθορισμένη διαδικασία.
- Τα δείγματα κοπράνων και οι χρησιμοποιούμενες μεμβρανικές συσκευές ενδέχεται να περιέχουν δυνητικά λοιμογόνους παράγοντες και 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 και Η.Π.Α.
- Φοράτε γάντια μιας χρήσης κατά την εκτέλεση της εξέτασης.
- Το *σύνεσμα*, το *αραιωτικό*, ο *θετικός ορός ελέγχου* και το *ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης* περιέχουν 0,05% ProClin® 300 ως συντηρητικό. Αν και η συγκέντρωση είναι χαμηλή, το ProClin® 300 είναι γνωστό ότι είναι επιβλαβές (ενδέχεται να παρατηρηθεί ευαισθητοποίηση του δέρματος). Εάν παρατηρηθεί ευαισθητοποίηση/ερεθισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Συμβουλευθείτε / Επισκεφθείτε γιατρό. Βγάλτε τα μολυσμένα ρούχα και πλύνετε τα πριν τα ξαναχρησιμοποιήσετε. Να χειρίζεστε τα αντιδραστήρια σύμφωνα με τους ισχύοντες κανονισμούς για την ασφάλεια του εργαστηρίου και τις ορθές εργαστηριακές πρακτικές. Τα Δελτία δεδομένων ασφαλείας για αυτό το προϊόν είναι διαθέσιμα κατόπι αιτήματος. Επικοινωνήστε με την τεχνική υποστήριξη.
- Πρέπει τήσθαι εθνικές, περιφερειακές και τοπικές διατάξεις αντιστοίχως για την απόρριψη των αποβλήτων.

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΟΠΡΑΝΩΝ

| Αποδεκτοί τύποι δειγμάτων | Μην χρησιμοποιείτε |
|---|---|
| Νωπά δείγματα κοπράνων | Δείγματα κοπράνων σε μοιμοποιητικό διάλυμα με βάση τη φορμαλίνη (π.χ. φορμαλίνη με οξικό νάτριο, 10% φορμαλίνη) |
| Κατεψυγμένα δείγματα κοπράνων (κατεψυγμένα μη αραιωμένα) | Δείγματα κοπράνων σε μοιμοποιητικό διάλυμα με βάση την αλκοόλη (π.χ. πολυβινυλική αλκοόλη) |
| Δείγματα κοπράνων σε υλικά μεταφοράς (π.χ. Cary Blair, C&S) | |

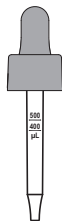
| Θερμοκρασία φύλαξης δειγμάτων | Αποδεκτή διάρκεια φύλαξης | Παρατηρήσεις |
|------------------------------------|---------------------------|---|
| Θερμοκρασία δωματίου (18°C - 25°C) | 24 ώρες | Τα νωπά δείγματα που θα εξετάζονται εντός 24 ωρών μπορούν να παραμείνουν σε θερμοκρασία δωματίου (18°C - 25°C). Αν δεν έχει προγραμματιστεί εξέταση σε χρονικό διάστημα μικρότερο από 24 ώρες, αποθηκεύστε υπό ψύξη (2°C - 8°C) το συντομότερο δυνατό από τη συλλογή. |
| Υπό ψύξη (2°C - 8°C) | 1 εβδομάδα | |
| Κατεψυγμένα ≤ -10°C | 7 μήνες | Εάν η εξέταση δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί εντός 1 εβδομάδας από τη συλλογή, καταψύξτε τα δείγματα και φυλάξτε τα σε θερμοκρασία ≤ -10°C. Αποψύξτε σε θερμοκρασία δωματίου. Η επανειλημμένη ψύξη και απόψυξη ενδέχεται να οδηγήσει σε απώλεια της δραστηριότητας των δειγμάτων λόγω αλλοίωσης των αντιγόνων. |

- Χρησιμοποιείτε τυπικές διαδικασίες συλλογής και χειρισμού που εφαρμόζονται εντός των εργαστηρίων για τα δείγματα κοπράνων. Να συλλέγετε τα δείγματα κοπράνων σε καθαρούς, στεγανούς περιέκτες.
- Μην φυλάσσετε τα δείγματα κοπράνων μέσα στο *αραιωτικό*.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

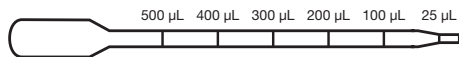
- Δώστε προσοχή στο συνολικό χρόνο της ανάλυσης κατά την εξέταση περισσότερων του ενός δειγμάτων κοπράνων.
- Φέρτε όλα τα αντιδραστήρια και τις συσκευές σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Αφαιρέστε τα αντιδραστήρια από το αφρώδες περιβλήμα για να μειώσετε το χρονικό διάστημα που απαιτείται για 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 ελέγχου.
- Χρησιμοποιώντας το γκρι διαβαθμισμένο σταγονόμετρο, προσθέστε 500 μl *αραιωτικό* (2^η διαβάθμιση από το ρύγχος) σε κάθε σωλήνα για τα νωπά και κατεψυγμένα δείγματα και τους εξωτερικούς ορούς ελέγχου. Για δείγματα σε υλικά μεταφοράς, όπως τα Cary Blair ή τα C&S, προσθέστε 400 μl (1^η διαβάθμιση από το ρύγχος) *αραιωτικού* στο σωλήνα.

| Τύπος δείγματος | Όγκος αραιωτικού |
|--|--|
| Νωπά δείγματα κοπράνων | 500 μL (2 ^η διαβάθμιση από το ρύγχος) |
| Κατεψυγμένα δείγματα κοπράνων (κατεψυγμένα μη αραιωμένα) | 500 μL (2 ^η διαβάθμιση από το ρύγχος) |
| Δείγματα σε υλικά μεταφοράς (Cary Blair, C&S) | 400 μL (1 ^η διαβάθμιση από το ρύγχος) |
| Εξωτερικοί οροί ελέγχου (θετικός και αρνητικός) | 500 μL (2 ^η διαβάθμιση από το ρύγχος) |



5. 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 **σύζευγμα** θα πρέπει να προστεθούν σε όλους τους σωλήνες πριν από την προσθήκη των δειγμάτων.
6. Χρησιμοποιήστε μία πλαστική πιπέτα μεταφοράς μίας χρήσης (παρέχεται με το κιτ) για κάθε δείγμα.

Διαβαθμισμένη πιπέτα μεταφοράς:

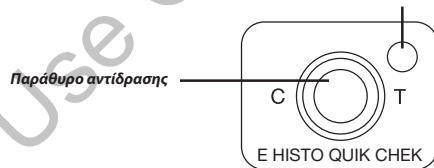


7. **Για υγρά/ήμιστερέα δείγματα** - Αναμειξτε το δείγμα πολύ καλά. Χρησιμοποιώντας μια πιπέτα μεταφοράς, προσθέστε 25 μL δείγματος στο μείγμα **αραιωτικού/συζεύγματος** στο σωλήνα.
Για σχηματισμένα/στερεά δείγματα - Αναμειξτε το δείγμα πολύ καλά χρησιμοποιώντας ένα ξύλινο ραβδί εφαρμογής και μεταφέρετε 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.
Δείγματα κοπράνων σε υλικά μεταφοράς Cary Blair ή C&S - χρησιμοποιώντας πιπέτα, μεταφέρετε 100 μL (2 σταγόνες από την πιπέτα μεταφοράς) δείγματος στο μείγμα αραιωτικού/συζεύγματος.
Σημείωση: Η μεταφορά πολύ μικρής ποσότητας δείγματος ή η παράλειψη ανάμειξης και πλήρους εναιώρησης του δείγματος στο μείγμα αραιωτικού/συζεύγματος ενδέχεται να οδηγήσει σε ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα της εξέτασης. Η προσθήκη υπερβολικής ποσότητας δείγματος ενδέχεται να οδηγήσει σε μη έγκυρα αποτελέσματα λόγω περιορισμένης ροής.
8. **Προαιρετικοί εξωτερικοί οροί ελέγχου:**
Οι προαιρετικές κασέτες ελέγχου μπορούν να χρησιμοποιηθούν ταυτόχρονα με τα δείγματα των ασθενών.
Εξωτερικός θετικός ορός ελέγχου - προσθέστε μία σταγόνα θετικού ορού ελέγχου (φιάλη με γκρι πώμα) στον κατάλληλο δοκιμαστικό σωλήνα.
Εξωτερικός αρνητικός ορός ελέγχου - προσθέστε 25 μL **αραιωτικού** στον κατάλληλο δοκιμαστικό σωλήνα.

9. Για όλα τα δείγματα εξέτασης και ορού ελέγχου, κλείστε τους σωλήνες και αναμειξτε πολύ καλά χρησιμοποιώντας αναμεικτή vortex ή αναστρέφοντας τους σωλήνες μερικές φορές. Δείγματα ή οροί ελέγχου που έχουν αραιωθεί στο μείγμα **αραιωτικού/συζεύγματος** μπορούν να επιαστούν σε θερμοκρασία δωματίου έως και 2 ώρες πριν από την προσθήκη στη **μεμβρανική συσκευή**.
10. Ανοίξτε ένα πακέτο **μεμβρανικής συσκευής** 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 CHECK" να βρίσκεται στην κάτω πλευρά της συσκευής και η μικρή **κυψελίδα δείγματος** να βρίσκεται στην επάνω δεξιά γωνία της συσκευής.

Μεμβρανική συσκευή

Κυψελίδα δείγματος



11. Βεβαιωθείτε ότι κάθε αραιωμένο δείγμα έχει αναθευθεί 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** και πάνω στο **τμήμα απορρόφησης**.
12. **Επώαστε τη συσκευή σε θερμοκρασία δωματίου για 15 λεπτά** – το δείγμα θα απορροφηθεί μέσω της συσκευής και μια υγρή περιοχή θα εμφανιστεί κατά πλάτος του **παράθυρου αντίδρασης**. Το βήμα της 15λεπτης επώασης πρέπει να ξεκινήσει αφού έχετε μεταφέρει και το τελευταίο αραιωμένο δείγμα 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 υγρονοθεί 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 ρυθμιζόμενου διαλύματος πλύσης στο κεντρικό παράθυρο αντίδρασης** χρησιμοποιώντας το **κεντρικό διαβαθμισμένο σταγονόμετρο**. Αφήστε το ρυθμιζόμενο διάλυμα πλύσης να απορροφηθεί πλήρως.
14. **Προσθέστε 2 σταγόνες υποστρώματος (φιάλη με λευκό πώμα) στο κεντρικό παράθυρο αντίδρασης.**
15. Επώαστε για 10 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Μετά από 10 λεπτά, διαβάστε και καταγράψτε τα αποτελέσματα.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ



Θετικό αποτέλεσμα

Αρνητικό αποτέλεσμα

Μη έγκυρο αποτέλεσμα

Μη έγκυρο αποτέλεσμα

- Η ερμηνεία της εξέτασης είναι πιο αξιόπιστη, όταν ελέγχετε τη συσκευή μετά το πέρας της περιόδου αντίδρασης 10 λεπτών. Ελέγξτε τα αποτελέσματα στη συσκευή από κανονική απόσταση εργασίας σε επαρκώς φωτισμένο χώρο. Κοιτάξτε σε ευθεία γραμμή ακριβώς πάνω από τη συσκευή.
- Ελέγξτε τη συσκευή για την παρουσία μπλε γραμμής στην πλευρά "C" του *παράθρου αντίδρασης* που αντιπροσωπεύει τη γραμμή του εσωτερικού θετικού ορού ελέγχου. Ελέγξτε τη συσκευή για την παρουσία μπλε γραμμής στην πλευρά "T" του *παράθρου αντίδρασης* που αντιπροσωπεύει τη γραμμή εξέτασης. Οι γραμμές ενδέχεται να εμφανίζονται αγνές έως έντονες ως προς την ένταση.
- Θετικό αποτέλεσμα: Ένα θετικό αποτέλεσμα μπορεί να ερμηνευθεί οποιαδήποτε στιγμή μεταξύ της προώθησης *υποστρώματος* και του 10λεπτου χρονικού διαστήματος ανάγνωσης. Δύο μπλε γραμμές είναι ορατές, η γραμμή ελέγχου ("C") και η γραμμή εξέτασης ("T"). Οι γραμμές ενδέχεται να εμφανίζονται αγνές έως έντονες ως προς την ένταση. Η εμφάνιση μπλε γραμμής στην πλευρά "T" μαζί με μια μπλε γραμμή ελέγχου ερμηνεύεται ως θετικό αποτέλεσμα. Μια εμφανής μερική γραμμή ερμηνεύεται ως θετικό αποτέλεσμα. Μην ερμηνεύετε τον αποχρωματισμό ή τη σκιά της μεμβράνης ως θετικό αποτέλεσμα. Ένα θετικό αποτέλεσμα υποδεικνύει την παρουσία της *E. histolytica*.
- Αρνητικό αποτέλεσμα: Μια εξέταση δεν μπορεί να ερμηνεύεται ως αρνητική ή άκυρη προτού παρέλθουν 10 λεπτά από την προώθηση του *υποστρώματος*. Μια μονή μπλε γραμμή είναι ορατή στην πλευρά ελέγχου ("C") του *παράθρου αντίδρασης* και δεν υπάρχει γραμμή εξέτασης στην πλευρά "T" του *παράθρου αντίδρασης*. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα υποδεικνύει ότι η *E. histolytica* είτε απουσιάζει από το δείγμα είτε βρίσκεται κάτω από το όριο ανίχνευσης της εξέτασης.
- Μη έγκυρο αποτέλεσμα: Μια μονή γραμμή εμφανίζεται στην πλευρά εξέτασης ("T") του *παράθρου αντίδρασης* ή δεν εμφανίζονται γραμμές στο *παράθρου αντίδρασης*. Το αποτέλεσμα της εξέτασης δεν είναι έγκυρο, εάν δεν υπάρχει γραμμή ελέγχου κατά την ολοκλήρωση της περιόδου αντίδρασης.

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 παράθρου αντίδρασης σε κάθε *μεμβρανική συσκευή* που εξετάζεται. Έτσι επιβεβαιώνεται ότι το δείγμα και τα αντιδραστήρια προστέθηκαν σωστά και αντέδρασαν κατάλληλα κατά την εξέταση. Το διαυδές 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

- 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.
- Η εξέταση *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* είναι ποιοτική. Η ένταση του χρώματος δεν θα πρέπει να ερμηνεύεται ποσοτικά.
- Λόγω μικρού αριθμού θετικών δειγμάτων που συλλέχθηκαν κατά τη διάρκεια της προοπτικής κλινικής μελέτης, τα χαρακτηριστικά απόδοσης για την *E. histolytica* προσδιορίστηκαν επίσης με αναδρομικά δείγματα.
- Η μεταφορά πολύ μικρής ποσότητας δείγματος ή η παράλειψη ανάμιξης και πλήρους εναιώρησης του δείγματος στο μείγμα *αραιωτικού/αυξέυματος* ενδέχεται να οδηγήσει σε ψευδές αρνητικό αποτέλεσμα της εξέτασης. Η προσθήκη υπερβολικής ποσότητας δείγματος ενδέχεται να οδηγήσει σε μη έγκυρα αποτελέσματα λόγω περιορισμένης ροής.

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 λοιμώξης *E. histolytica* ποικίλει 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 κυμαίνονται 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™* βασίστηκε στη σύγκριση με τη σύνθετη μέθοδο αναφοράς (Composite Reference Method - CRM), η οποία περιλάμβανε τη μοριακή ανίχνευση της *Entamoeba histolytica*. Συνολικά, αξιολογήθηκαν 851 δείγματα κοπράνων και συμπεριλήφθηκαν 96 αναδρομικά δείγματα. Πληροφορίες για την ηλικία ήταν διαθέσιμες για 851 ασθενείς. Από τους 851 ασθενείς, το 18,9% ήταν ≤ 20 ετών. Πληροφορίες για το φύλο ήταν διαθέσιμες για 851 ασθενείς: άνδρες σε ποσοστό 42,7% και γυναίκες σε ποσοστό 57,3%. Οι πίνακες 1 και 2 δείχνουν μια σύνοψη της κλινικής απόδοσης της εξέτασης *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Ο πίνακας 1 παρουσιάζει τα αποτελέσματα των προοπτικών δειγμάτων. Από τα 755 δείγματα που συλλέχθηκαν προοπτικά, τα 100 από τα δείγματα που συλλέχθηκαν προοπτικά αραώθηκαν σε Protocol Cary-Blair και Para-Pak® C&S. Όλα τα δείγματα που αραιώθηκαν σε υλικά μεταφοράς και εξετάστηκαν ήταν αρνητικά. Η προοπτική εξέταση *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* παρουσίασε ευαισθησία της τάξεως του 40,0%, με ειδικότητα της τάξεως του 100%, μια θετική τιμή πρόβλεψης της τάξεως του 100% και μια αρνητική τιμή πρόβλεψης της τάξεως του 99,6% με τη σύνθετη μέθοδο αναφοράς CRM. Ο πίνακας 2 παρουσιάζει τα αποτελέσματα των αναδρομικών δειγμάτων, τα οποία έδειξαν ότι η εξέταση *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* παρουσίασε ευαισθησία και ειδικότητα της τάξεως του 100% με τη σύνθετη μέθοδο αναφοράς.

Πίνακας 1. Σύνοψη της προοπτικής κλινικής απόδοσης με σύγκριση της εξέτασης E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ και των προοπτικών δειγμάτων της σύνθετης μεθόδου αναφοράς (Composite Reference Method - CRM)

| N = 755 | Σύνθετη μέθοδος αναφοράς Θετική | Σύνθετη μέθοδος αναφοράς Αρνητική |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ Θετική | 2 | 0 |
| E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ Αρνητική | 3 | 750 |
| 95% όρια εμπιστοσύνης | | |
| Ευαισθησία | 40,0% | 7,3% - 83,0% |
| Ειδικότητα | 100% | 99,4% - 100% |
| Θετική τιμή πρόβλεψης | 100% | 19,8% - 100% |
| Αρνητική τιμή πρόβλεψης | 99,6% | 98,7% - 99,9% |

Τα τρία ψευδή αρνητικά αποτελέσματα ήταν θετικά με PCR και αρνητικά για αντιγόνο. Πραγματοποιήθηκε πρόσθετη εξέταση αντιγόνου με συσκευή εγκεκριμένη από την FDA.

Πίνακας 2. Σύνοψη της αναδρομικής κλινικής απόδοσης με σύγκριση της εξέτασης E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ και των αναδρομικών δειγμάτων της σύνθετης μεθόδου αναφοράς (Composite Reference Method - CRM)

| N = 96 | Σύνθετη μέθοδος αναφοράς Θετική | Σύνθετη μέθοδος αναφοράς Αρνητική |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ Θετική | 30 | 0 |
| E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ Αρνητική | 0 | 66 |
| 95% όρια εμπιστοσύνης | | |
| Ευαισθησία | 100% | 85,9% - 100% |
| Ειδικότητα | 100% | 93,1% - 100% |

ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ

Η αναπαραγωγιμότητα της εξέτασης E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ προσδιορίστηκε με χρήση 8 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 περιλάμβαναν 2 αρνητικά δείγματα, 2 αρνητικά δείγματα υψηλού επιπέδου, 2 θετικά δείγματα χαμηλού επιπέδου και 2 θετικά δείγματα μέτριου επιπέδου. Τα δείγματα εξετάστηκαν εις τριπλούν, δύο φορές την ημέρα, για μια περίοδο 5 ημερών από περισσότερους από έναν τεχνικούς σε κάθε τοποθεσία, με τη χρήση 2 διαφορετικών παρτίδων κιτ. Ένας θετικός και ένας αρνητικός ορός ελέγχου συμπεριλήφθηκαν στην κάθε ομάδα των κρυφών δειγμάτων. Τα αποτελέσματα από το κάθε εργαστήριο υποβλήθηκαν 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> O157:H7 | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| <i>Campylobacter coli</i> | <i>Escherichia coli</i> EIEC | <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> ETEC | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> |
| <i>Candida albicans</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Yersinia enterocolitica</i> |
| <i>Clostridium bifermentans</i> | <i>Salmonella typhimurium</i> | |

| | | |
|-------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Αδενοϊός, 2, 5, 40, 41 | Ανθρῶπιος Αδενοϊός 1, 3 | Ανθρῶπιος Εντεροϊός 69, 70, 71 |
| Ιός Κοζάκι B5 | Ανθρῶπιος Κορονοϊός | Ανθρῶπιος ιός parechovirus 1 |
| Ιός Echo 11, 18, 22, 33 | Ανθρῶπιος ιός Κοζάκι B2, B3, B4 | [Ιός Echo 2] |
| Εντεροϊός 68, 69 | Ανθρῶπιος ιός Echo 9 | Ανθρῶπιος Ροταϊός |

Η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με Νοροϊό είναι άγνωστη καθώς δεν έγινε εξέταση σε αναλυτικές μελέτες. Ωστόσο, ο Νοροϊός GI/GII προσδιορίστηκε σε 50 κλινικά δείγματα με χρήση εγκεκριμένης από την FDA εξέτασης πολλαπλής ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων (Multiplex NAAT) κατά τη διάρκεια κλινικών εξετάσεων και δεν εντοπίστηκε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με χρήση της εξέτασης E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ σε αυτά τα δείγματα.

Επιπροσθέτως, η εκτέλεση της εξέτασης E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ έγινε σε δείγματα κοπράνων που τεκμηριώθηκαν ως θετικά για άλλα παράσιτα με μικροσκοπία. Ο αριθμός στην παρένθεση είναι ο αριθμός των κλινικών δειγμάτων στα οποία προσδιορίστηκε κάθε οργανισμός. Δεν εμφανίστηκε διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με τους παρακάτω οργανισμούς.

| | | |
|--|----------------------------------|--------------------------------------|
| <i>Ascaris lumbricoides</i> και με αυγά (21) | <i>Entamoeba bangladeshi</i> (3) | <i>Giardia spp.</i> (45) |
| <i>Blastocystis hominis</i> (12) | <i>Entamoeba coli</i> (13) | <i>Iodamoeba bütschlii</i> (10) |
| <i>Cryptosporidium spp.</i> (30) | <i>Entamoeba moshkovskii</i> (3) | Αυγά <i>Trichuris trichiura</i> (11) |

Εξειδικευμένη μελέτη κατά στέλεχος

Η ειδικότητα της εξέτασης *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* αξιολογήθηκε επίσης με την εξέταση της αντιδραστικότητας των παθογόνων (*Entamoeba histolytica*) και μη παθογόνων (*Entamoeba dispar*) ζυμοδεμάτων (στελεχών) για αντιδραστικότητα με αραιώσεις πρότυπης καμπύλης. Τα αποτελέσματα της *E. histolytica* ήταν θετικά από 244 έως 30,5 παθογόνα ζυμοδέματα (PZ)/mL και τα αποτελέσματα της *E. dispar* ήταν αρνητικά σε όλες τις αραιώσεις, ξεκινώντας στα 2440 μη παθογόνα ζυμοδέματα (NPZ)/mL. Η εξέταση *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* παρουσιάζει ορθή αντιδραστικότητα με την *Entamoeba histolytica* και δεν εμφανίζει διασταυρούμενη αντιδραστικότητα με την *Entamoeba dispar*.

Επιπροσθέτως, λόγω της ομοιότητας στη μορφολογία, 3 δείγματα που προσδιορίστηκαν με PCR ως θετικά για *Entamoeba moshkovskii* και 3 ως θετικά για *Entamoeba bangladeshi* αξιολογήθηκαν με χρήση της εξέτασης *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Το αποτέλεσμα της εξέτασης *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* για αυτά τα 6 δείγματα ήταν αρνητικό.

ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΟΥΣΣ 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: Θειικό βάριο (5% w/v), χλωριούχο βενζαλκόνιο (1% w/v), σπιροφλοξασίνη (0,25% w/v), αιθανόλη (1% w/v), γαστρική βλεννίνη χοίρου (3,5% w/v), ανθρώπινο αίμα (40% v/v), υδροκορτιζόνη (1% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), λευκοκίτταρα (0,05% w/v), Maalox® Advanced (5% v/v), μεσαλαζίνη (10% w/v), μετρονιδαζόλη (0,25% w/v), ορυκτέλαιο (10% w/v), Mylanta® (4,2 mg/mL), Narxopen Sodium (5% w/v), νονοξυλόλη-9 (40% w/v), νυστατίνη (1% w/v), παλμιτικό οξύ/περιττωματικό λίπος (40% w/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), φαινυλεφρίνη (1% w/v), πολυαιθυλονεολυκόλη 3350 (10% w/v), Prilosec OTC® (5 μg/mL), σενσοιδές (1% w/v), σιμεθικόνη (10% w/v), στεατικό οξύ/περιττωματικό λίπος (40% w/v), Tagamet® (5 μg/mL), TUMS (50 μg/mL), ανθρώπινα ούρα (5% v/v) και βανκομυκίνη (0,25% w/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 κτ. 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. Η συνολική συσχέτιση μεταξύ των αποτελεσμάτων ήταν 100%.

ΑΚΡΙΒΕΙΑ – ΜΕΤΑΞΥ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

Για τον προσδιορισμό της απόδοσης μεταξύ των αναλύσεων, οχτώ δείγματα ανθρώπινων κοπράνων αναλύθηκαν με την εξέταση *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Τα δείγματα περιλάμβαναν 2 αρνητικά δείγματα, 2 αρνητικά δείγματα υψηλού επιπέδου, 2 θετικά δείγματα χαμηλού επιπέδου και 2 θετικά δείγματα μέτριου επιπέδου. Τα δείγματα εξετάστηκαν δύο φορές την ημέρα από περισσότερους από έναν τεχνικούς για μια περίοδο 12 ημερών, με τη χρήση 2 διαφορετικών παρτίδων κτ. Σε κάθε μέρα εξετάστηκαν έξι θετικοί 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 320 παθογόνα ζυμοδέματα (PZ)/mL για *E. histolytica* (ισοδύναμο με εντοπισμό 15 PZ ανά εξέταση). Για δείγματα σε μέσα Protocol™ Cary Blair, το όριο ανίχνευσης (LoD) προσδιορίστηκε σε 275 PZ/mL για *E. histolytica* (ισοδύναμο με εντοπισμό 14 PZ ανά εξέταση). Για δείγματα σε μέσα Para-Pak® C&S, το όριο ανίχνευσης (LoD) προσδιορίστηκε σε 245 PZ/mL για *E. histolytica* (ισοδύναμο με εντοπισμό 12 PZ ανά εξέταση).

ΝΩΠΑ ΚΑΙ ΚΑΤΕΨΥΓΜΕΝΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ

Εκτιμήθηκε η επίδραση της μακροπρόθεσμης φύλαξης κατεψυγμένων δειγμάτων στη σταθερότητα των αντιγόνων. Για την ανάλυση, 15 δείγματα κοπράνων εξετάστηκαν με την εξέταση *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Τα δείγματα κοπράνων αποτελούνταν από 3 αρνητικά δείγματα κοπράνων, 3 αρνητικά δείγματα κοπράνων *E. histolytica* υψηλού επιπέδου, 3 θετικά δείγματα κοπράνων *E. histolytica* χαμηλού επιπέδου, 3 θετικά δείγματα κοπράνων *E. histolytica* μέτριο επιπέδου και 3 θετικά δείγματα κοπράνων *E. histolytica* υψηλού επιπέδου. Τα δείγματα προετοιμάστηκαν και αποθηκεύτηκαν στους $\leq -10^{\circ}\text{C}$ σε 0, 1 και 4, 8, 12, 16, 20, 24 και 28 εβδομάδες. Δεν παρατηρήθηκε μετατροπή από θετικό σε αρνητικό ή αρνητικό σε θετικό σε κανένα από τα δείγματα στα καθορισμένα χρονικά σημεία.

ΠΡΟΖΩΝΗ

Για να διασφαλιστεί ότι μια υψηλή συγκέντρωση αντιγόνου *E. histolytica* δεν επηρεάζει τη θετική αντίδραση της εξέτασης *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*, προετοιμάστηκαν δείγματα υψηλού επιπέδου με αύξηση συγκέντρωσης κοπράνων αρνητικού επιπέδου σε συγκέντρωση που πιθανώς παρατηρείται σε κλινικά δείγματα. Ένα σύνολο 5 διαφορετικών αραιώσεων του αντιγόνου, έως και την κλινικά παρατηρούμενη υψηλή συγκέντρωση, προετοιμάστηκαν και εξετάστηκαν εις τριπλούν. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπήρξε φαινόμενο προζώνης και ότι τα αυξημένα επίπεδα αντιγόνου δεν επηρέασαν τον εντοπισμό του αντιγόνου.

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

A TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ teszt gyors membrán enzim immunoassay az *Entamoeba histolytica* kvalitatív kimutatására egyszerű használatos kazetában. Hasmenéses vagy dizentériás betegektől származó emberi székletminták vizsgálatára szolgál az E. *histolytica* emésztőrendszeri fertőzés diagnosztizálására. A teszt eredményeit a beteg kórtörténetével együtt kell figyelembe venni.

IN VITRO DIAGNOSZTIKAI HASZNÁLATRA

Vigyázat: Az Egyesült Államok szövetségi törvényei értelmében a jelen eszköz csak orvos által vagy orvosi rendelvényre értékesíthető

MAGYARÁZAT

Az *Entamoeba histolytica* és az *Entamoeba dispar* bélpаразитák, 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, kolitiszt) és extraintesztinális amőbiázist (pl. málytájog) okoz. Az E. *dispar* nem okoz tünetekkel járó betegséget, és a pontatlan diagnózis szükségtelem 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, valamint az eljárás kevésbé munkaigényes, mint más diagnosztikai módszerek.

A TESZT ELVE

Az E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ teszt az E. *histolytica* kórokozóra specifikus antitesteket alkalmaz. A Membránszközök 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 tormaperoxidázzal (HRP) szembeni antitesteket tartalmaz. A Konjugátum tormaperoxidázhoz kapcsolts, 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 keveréket hozzáadják a Minta Wellhez és az eszközt hagyják inkubálni 15 perig szobahőmérsékleten. Az inkubálás során a mintában lévő E. *histolytica* adhezin kötődik az antitest-peroxidáz konjugátumhoz. Az antigén-antitest konjugátum komplexek szűrőbetéten keresztül vándorolnak egy membránhoz, ahol a vonalakban lévő immobilizált anti-adhezin antitestek megkötik őket. A Reakcióablakot ezután kimossák a Mosópuferrel, 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” oldalain. A Reakcióablak, C” 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 Membránszközön. Továbbá megerősíti az assay-vel kapcsolatos többi reagens reaktivitását.

MATERIALS PROVIDED

- MEM DEV** Membránszközök – mindegyik tasak 1 eszközt tartalmaz
- CONJ ENZ** Konjugátum (2 ml) – Pufferelt fehérjeoldatban tormaperoxidázhoz kapcsolts E. *histolytica* vonatkozásában specifikus antitest(0,05% ProClin® 300-at tartalmaz)*
- DIL SPE** Hígító (16 ml) – Pufferelt fehérjeoldatban szürke fokbeosztásos cseppentő szerelvényel (0,05% ProClin® 300-at tartalmaz)*
- CONTROL+** Pozitív kontroll (1 ml) – E. *histolytica* antigén pufferelt fehérjeoldatban (0,05% ProClin® 300-at tartalmaz)*
- SUBS REAG** Szubsztrát (3,5 ml) – Tetrametil-benzidint tartalmazó oldat
- WASH REAG** Mosópufer (12 ml) – Pufferelt oldat fehér fokbeosztásos cseppentő szerelvényel (0,05% ProClin® 300-at tartalmaz)*



*(0,05% ProClin® 300-at tartalmaz)

Figyelmeztetés: Figyelem

H317: Allergiás bőrreakciót okozhat

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

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

SZÜKSÉGES, DE NEM MELLÉKELT ESZKÖZÖK

- Kis tesztcsövek (pl. műanyag mikrocentrifuga csövek)
- Fa applikátor pálcák
- Eldobható kesztyűk
- Pipetta és hegyek
- Időzítő

FELHASZNÁLHATÓSÁGI IDŐTARTAM ÉS TÁROLÁS

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

ÖVINTÉZKEDÉSEK

1. Rx Only – Csak orvosi rendelvényre
2. Kizárólag szakmai felhasználásra.
3. Megerékezőkor 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 szívárgás jelei.
4. Használat előtt minden komponენტ hagyjon szobahőmérsékletre melegedni, így biztosítva a kit megfelelő reaktivitását.
5. A Szubsztrát reagensnek szintelennek kell lennie. Ha a Szubsztrát reagens sötétkék/lila színre változik, dobja ki, és a cseréhez hívja a műszaki szolgálatot.
6. A különböző készletekből származó reagenseket nem szabad összekeverni vagy felcserélni. Ne használja a készletet a lejárati dátumon túl.
7. A kupakok, hegyek és cseppentő szerelvények szinkódoltak; NE keverje, s ne cserélje ki őket!

HU

- Az optimális eredmények eléréséhez az alábbi táblázatban javasolt székletmintákat használja. A fagyasztott minták elveszthetik a reaktivitásukat a fagyasztás és felolvasztás miatt. A fagyasztva tárolt székletminták legfeljebb 5-ször olvashatók fel. A fagyasztva tárolt szállítóközegekben lévő székletmintákat egy alkalommal felolvaszthatók. A minták tárolásakor kerülje el a szélsőséges hőmérsékleteket és tartsa őket távol közvetlen napfénytől.
- A tesztet optimalizálták érzékenységre és specifitásra vonatkozóan. A megadott eljárás és/vagy tesztfeltételek módosításai befolyásolhatják a teszt érzékenységét és specifitását. Ne térjen el a megadott eljárástól.
- A székletminták és a használt membránészeközök 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.
- A *Konjugátum*, *higító*, *pozitív kontroll* és mosópuffer reagensek 0.05% ProClin® 300-at tartalmaznak tartósítószerként. Habár a koncentráció alacsony, a ProClin® 300 káros hatású (bőr szenzibilizációt okozhat). Amennyiben bőr szenzibilizációt/bőrirritációt vagy kiütést okoz, forduljon orvoshoz. Vége le a szennyezett ruhadarabot és mossa ki, mielőtt újra használná. A reagenst kezelje az érvényben lévő szabályoknak, a laboratóriumi biztonságnak és a helyes laboratóriumi gyakorlatnak megfelelően. Kérésre elérhető a termékhez tartozó biztonsági adatlap. Ehhez lépjen kapcsolatba a technikai ügyfélszolgálattal.
- Tartsa be a hulladékátalmatlanítási szabályokra vonatkozó nemzeti, regionális és helyi előírásokat.

SZÉKLETMINTÁK VÉTELE, KEZELÉSE ÉS TÁROLÁSA

| Elfogadható mintatípusok |
|--|
| Friss székletminták |
| Fagyasztott székletminták (higítatlanul fagyasztott) |
| Székletminták transzportközegekben (pl. Cary Blair, C&S) |

| Ne használjon |
|---|
| Formalinos fixálószerekben lévő székletmintákat (pl. nátrium-acetát formalin, 10% formalin) |
| Alkoholos fixálószerekben lévő székletmintákat (pl. poli(vinil-alkohol)) |

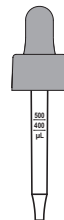
| Minta tárolási hőmérséklete | A tárolás elfogadható hosszúsága | Megjegyzések |
|----------------------------------|----------------------------------|--|
| Szobahőmérséklet (18 °C – 25 °C) | 24 óra | A 24 órán belül tesztelt friss minták szobahőmérsékleten maradhatnak (18 °C – 25 °C). Ha nem tervezik elvégezni a tesztelést <24 óra alatt, hűtse le (2 °C – 8 °C) a lehető leghamarabb a mintavétel után. |
| Hűtött (2 °C – 8 °C) | 1 hét | |
| Fagyasztott ≤ -10 °C | 7 hónap | Ha a vizsgálat nem végezhető el a gyűjtéstől számított 1 héten belül, akkor fagyassza le a mintákat és tárolja ≤ -10 °C-on. Olvassza fel szobahőmérsékleten. A többszörös fagyasztás és felolvasztás a minta aktivitásának elvesztését eredményezheti az antigén degradációja miatt. |

- A székletmintákkal kapcsolatban alkalmazza a szabványos, házon belüli mintavételi és kezelési eljárásokat. A székletmintákat tiszta, szivargásmentes tartályokban gyűjtse.
- Ne tárolja a székletmintákat a *Higítóban*.

TESZTELJÁRÁS

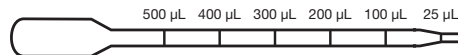
- Figyeljen az assay teljes idejére egynél több székletminta tesztelesekor.
- Felhasználás előtt minden reagenst és eszközt hagyjon szobahőmérsékletre melegedni. Távolítsa el a reagenseket a habbetétből, hogy csökkentsék a szobahőmérsékletre való melegedéshez szükséges időt. Állítson be és jelöljön meg címkével egy kis tesztcsovet minden mintára és opcionális külső kontrollokra vonatkozóan.
- A szürke fokbeosztásos csepegtető szerelvény alkalmazásával adjon hozzá 500 µl (2. fokbeosztás a hegytől mérve) *higító* mindegyik csőhöz a friss és fagyasztott minták, valamint külső kontrollok esetében. A transzportközegekben, mint például Cary Blair vagy C&S lévő minták esetében adjon 400 µl (1. fokbeosztás a hegytől mérve) *higító* a csőhöz.

| Minta típusa | Higító térfogata |
|--|-----------------------------------|
| Friss székletminták | 500 µl (2. fokbeosztás a hegytől) |
| Fagyasztott székletminták (higítatlanul fagyasztott) | 500 µl (2. fokbeosztás a hegytől) |
| A transzportközegekben lévő minták (Cary Blair, C&S) | 400 µl (1. fokbeosztás a hegytől) |
| Külső kontrollok (pozitív és negatív) | 500 µl (2. fokbeosztás a hegytől) |



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

Fokbeosztásos transzferpipetta:



- 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.

A Cary Blair vagy a C & S transzportközegekben lévő székletminták - pipettázzon 100 µl (2 csepp a transzferpipettából) mintát a *higító*/*Konjugátum* keverékbe.

Megjegyzés: Ha túl kevés mintát visz át, vagy nem keveri össze és nem szuszpendálja teljesen a mintát a *Higító*/*Konjugátum* elegyben, ez hamis negatív teszt eredményt okozhat. A túl sok minta hozzáadása érvénytelen eredményeket okozhat a korlátozott mintáramlás miatt.

8. Opcionális külső kontrollok:

Az opcionális kontrollkazetták a betegmintákkal párhuzamosan futtathatók.

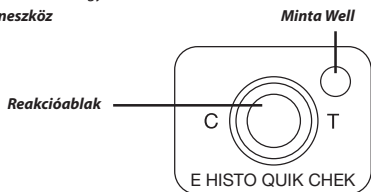
Külső pozitív kontroll - adjon csepp pozitív kontrollt (szürke kupakos üveg) a megfelelő tesztsőbe.

Külső negatív kontroll - tegyen 25 µl Hígítót a megfelelő tesztsőbe.

9. Minden vizsgálandó és kontroll minta esetében zárja le a csöveket, és egy vortex keverővel vagy a cső többszöri megfordításával alaposan keverje össze. A Hígító/Konjugátum elegendő hígított minták és kontrollok szobahőmérsékleten maximum 2 órán át inkubálhatók a Membráneszközökhöz való hozzáadás előtt.

10. Nyissa ki egy-egy, szobahőmérsékletű Membráneszköz tasakját minden hígított mintához és külső kontrollhoz (szükség szerint). Címkézzel 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.

Membráneszköz



11. Mielőtt hozzáadja a Membráneszközökhöz 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 Membráneszköz Minta Welljébe (az eszköz jobb felső sarkában lévő kisebb lyuk).** Amikor a mintát beméri a Minta Wellbe, ügyeljen arra, hogy a transzferpipetta hegye a Minta Well lyuk belsejében legyen és a Reakcióablak felé, valamint a felszívó párnára dőjön.

12. **Inkubálja az eszközt szobahőmérsékleten 15 percig** – a minta átszivárog az eszközön 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 SIKERTELLEN:

Bizonyos esetekben a hígított minta nem migrál megfelelően, és a Reakcióablak nem lesz teljesen nedves.

Ha a Reakcióablak nem tűnik teljesen nedvesnek 5 perccel azután, hogy a mintát a Minta Wellhez hozzáadták, adjon 100 µl (4 csepp) Hígítót a Sample Wellhez és várjon további 5 perccel (összesen 20 perccel). 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 felszivódjon.

14. **Adjon 2 csepp Szubsztrátot (fehér kupakos üveg) a Reakcióablakhoz.**

15. Inkubálja szobahőmérsékleten 10 percig. 10 perc múlva szemrevételezéssel olvassa le és jegyezze fel az eredményeket.

AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE



Pozitív eredmény



Negatív eredmény



Érvénytelen eredmény



Érvénytelen eredmény

- A teszt értelmezése akkor a legmegbízhatóbb, ha az eszközt a 10 perces reakcióidő végén leolvassák. A készüléket normál működési távolságban, jól megvilágított területen olvassa le. Közvetlenül az eszköz feletti látóvonal mentén tekintse meg.
- Figyelje meg az eszközt, hogy nem jelenik-e meg két vonal a Reakcióablak „C” oldalán, amely a belső pozitív kontroll vonalat képviseli. Figyelje meg az eszközt, hogy nem jelenik-e meg két vonal a Reakcióablak „T” oldalán, amely a tesztvonalat képviseli. A vonalak intenzitása halványtól sötétig terjedhet.
- Pozitív eredmény: A pozitív eredmény értelmezhető bármikor a Szubsztrát hozzáadása és a 10 perces leolvasási időpont között. Két kék vonal látható, a kontroll vonal („C”) és a teszt vonal („T”). A vonalak intenzitása halványtól sötétig terjedhet. A kék vonal megjelenése a „T” oldalán a kék kontroll vonal mellett pozitív eredményként értelmezendő. A feltűnő részleges vonal pozitív eredményként értelmezendő. Ne értelmezze a membrán elszíneződését vagy az árnyékok pozitív eredményként. A pozitív eredmény az *E. histolytica* jelenlétét mutatja.
- Negatív Eredmény: A teszt nem értelmezhető negatívként vagy érvénytelenként a Szubsztrát hozzáadását követő 10 percig. Egyetlen kék vonal látható a Reakcióablak kontroll („C”) oldalán és nem látható teszt vonal a Reakcióablak „T” oldalán. A negatív eredmény azt jelzi, hogy az *E. histolytica* vagy nincs jelen a mintában vagy a teszt kimutatási határa alatt van.
- Érvénytelen Eredmény: Egyetlen vonal látható a Reakcióablak teszt („T”) oldalán, vagy egyáltalán nem látható vonal a Reakcióablakban. A teszt eredménye érvénytelen, ha a reakcióidőszak befejeződésekéncsincs jelen kontroll vonal.

MINŐSÉG-ELLENŐRZÉS

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

Belső: Függetlenül a 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 fehértől világoskékig terjedhet, és minden kialakult vonal tisztán látható lesz.

Külső: Az *E. HISTOLOGYICA QUIK CHEK™* teszt reaktivitását ellenőrizni kell átvételkor a Pozitív Kontroll és a negatív kontroll (Hígító) átvételekor. 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.

KORLÁTOZÁSOK

- A negatív teszteredmény nem zárja ki az *E. histolytica* adhezin jelenlétének lehetőségét a mintában, ami akkor fordulhat elő, ha az antigénszint az esz kimutatási határa alatt van.
- Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* teszt kvalitatív. A teszt intenzitása nem értelmezhető kvantitatív módon.
- A prospektív klinikai vizsgálat során összegyűjtött pozitív minták kis száma miatt az *E. histolytica* teljesítményjellemzőit retrospektív klinikai mintákkal is igazolták.
- Ha túl kevés mintát vizs át, vagy nem keveri össze és nem szuszpendálja teljesen a mintát a *Hígító/Konjugátum* elegyben, ez hamis negatív teszteredményt okozhat. A túl sok minta hozzáadása érvénytelen eredményeket okozhat a korlátozott mintaaáramlás miatt.

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, ez azt jelzi, hogy a személy kimutatható mennyiségben üríti az *E. histolytica* antigént. Az *E. histolytica* fertőzés incidenciája népcsoportonként és földrajzi régióként 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 májbetegségektől a májtályogokig terjedhetnek. Nagy kockázatú csoportok a következők: külföldre utazók, bevándorlók, legyengült immunrendszerű személyek, vendégmunkások és aktív homoszexuális férfiak (2, 3). A nem patogén 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 a kompozit referenciamódszerrel (Composite Reference Method, CRM) hasonlították össze, amely magában foglalta az *Entamoeba histolytica* molekuláris kimutatását. Összesen 851 székletmintát értékelésére és 96 retrospektív minta felvételére került sor. Az életkorral kapcsolatos információk 851 beteg esetében álltak rendelkezésre. A 851 beteg közül 18,9% volt ≤ 20 éves. A nemre vonatkozó információ 851 beteg esetében állt rendelkezésre, akiknek 42,7%-a férfi, 57,3%-a nő volt. Az 1. és 2. táblázat az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* teszt klinikai teljesítményének összefoglalását mutatja be. Az 1. táblázat a prospektív minták eredményeit mutatja, a 755 prospektív összegyűjtött mintából, a prospektív összegyűjtött mintából 100-at Protocol™ Cary-Blair és Para-Pak™ C&S készítményben hígítottak. A transzportközegben hígított és tesztelt minták mindegyike negatív volt. A prospektív tesztelés alapján az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* teszt 40,0%-os érzékenységet mutatott 100%-os specificitással, 100%-os prediktív pozitív értéket, valamint 99,6% prediktív negatív értéket CRM esetében. A 2. táblázat szemlélteti a retrospektív minták eredményeit, amelyek azt mutatták, hogy az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* 100%-os érzékenységet és specificitást mutat a CRM esetében.

1. táblázat Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* tesztet a kompozit referenciamódszer (Composite Reference Method, CRM) prospektív mintáival összehasonlító prospektív klinikai teljesítmény összességé

| N = 755 | Kompozit referenciamódszer pozitív | Kompozit referenciamódszer negatív |
|--|------------------------------------|------------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Pozitív | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negatív | 3 | 750 |

95% Konfidenciahatárok

| | | |
|-------------------------|-------|---------------|
| Érzékenység | 40,0% | 7,3% – 83,0% |
| Specificitás | 100% | 99,4% – 100% |
| Prediktív Pozitív Érték | 100% | 19,8% – 100% |
| Prediktív Negatív Érték | 99,6% | 98,7% – 99,9% |

Mindhárom hamis negatív eredmény PCR-pozitív és antigén-negatív volt. További antigéntesztlésre egy korábban jóváhagyott FDA-eszközzel került sor.

2. táblázat Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* tesztet a kompozit referenciamódszer (Composite Reference Method, CRM) retrospektív mintáival összehasonlító retrospektív klinikai teljesítmény összességé

| N = 96 | Kompozit referenciamódszer pozitív | Kompozit referenciamódszer negatív |
|--|------------------------------------|------------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Pozitív | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negatív | 0 | 66 |

95% Konfidenciahatárok

| | | |
|--------------|------|--------------|
| Érzékenység | 100% | 85,9% – 100% |
| Specificitás | 100% | 93,1% – 100% |

REPRODUKÁLHATÓSÁG

Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* teszt reprodukálhatóságát 8 olyan székletminta alkalmazásával határozták meg, amelyeket kódoltak, hogy megakadályozzák az azonosításukat a tesztelés során. A tesztelést 2 független laboratóriumban és a TECHLAB, Inc. telephelyén végezték el. A minták 2 negatív mintát, 2 magas negatív mintát, 2 alacsony pozitív mintát és 2 mérsékelt pozitív mintát tartalmaztak. A mintákat naponta kétszer, háromszorosan tesztelték 5 napos időszakonként több technikus közreműködésével mindegyik helyszínen 2 különböző gyártási számú kit felhasználásával. Minden álcázott mintapanellel futtattak pozitív és negatív kontrollt. Mindegyik laboratórium eredményeit eljuttatták a TECHLAB, Inc. részére, és összehasonlították azokat a belső eredményekkel. Az eredmények a különböző vizsgálóléhelyek 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 vírus törzsekkel 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> EIEC | <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> ETEC | <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 | Humán adenovirus 1, 3 | Humán enterovirus 69, 70, 71 |
| Coxsackievirus B5 | Humán coronavirus | Humán parechovirus 1 |
| Echovirus 11, 18, 22, 33 | Humán coxsackievirus B2, B3, B4 | [Echovirus 22] |
| Enterovirus 68, 69 | Humán echovirus 9 | Human rotavírus |

A Norovirusral való keresztreaktivitását nem ismert, mivel nem tesztelték analitikai vizsgálatokban. Azonban a Norovirus GI/GII-50 klinikai mintában azonosították egy FDA által jóváhagyott multiplex NAAT assay alkalmazásával a klinikai tesztelés során, és nem találtak keresztreaktivitást a nevezett mintákban az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* alkalmazása mellett.

Ezenkívül, az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* tesztet olyan székletmintákkal is elvégezték, amelyek mikroszkópos vizsgálattal dokumentáltak pozitívak voltak más paraziták esetében. A zárójelben szereplő szám azon klinikai minták száma, amelyekben minden egyes organizmus azonosításra került. Nem figyeltek meg keresztreaktivitást a következő organizmusokkal.

| | | |
|--|----------------------------------|---------------------------------------|
| <i>Ascaris lumbricoides</i> és petéik (21) | <i>Entamoeba bangladeshi</i> (3) | <i>Giardia spp.</i> (45) |
| <i>Blastocystis hominis</i> (12) | <i>Entamoeba coli</i> (13) | <i>Iodamoeba bütschlii</i> (10) |
| <i>Cryptosporidium spp.</i> (30) | <i>Entamoeba moshkovskii</i> (3) | <i>Trichuris trichiura</i> peték (11) |

TÖRZSSPECIFIKUS VIZSGÁLAT

Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* teszt specifikitását a patogén (*Entamoeba histolytica*) és nem patogén (*Entamoeba dispar*) zimodemek (törzsek) reaktivitásának vizsgálatával is kiértékeltek standard görbés hígítással. Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* tesztetelések pozitívak voltak 244-től 30,5 patogén zimodemiig (PZ)/ml és az *E. dispar* eredmények negatívak voltak az összes olyan hígítás során, amely 2440 nem patogén zimodemmel kezdődött (NPZ)/ml. Az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* igazolja az *Entamoeba histolytica*-val való megfelelő reaktivitást és nem reagál keresztreakcióval az *Entamoeba dispar*-ral.

Továbbá, a morfológiai hasonlóság miatt a PCR 3 mintát azonosított pozitívként az *Entamoeba moshkovskii* vonatkozásában, az *Entamoeba bangladeshi* vonatkozásában pedig 3 pozitívat értékelték ki az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* teszt alkalmazásával. Ez a 6 minta mind negatívnak bizonyult az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* teszt során.

ZAVARÓ ANYAGOK (USA-KÉSZÍTMÉNY)

A következő anyagok a jelzett koncentrációban nem voltak hatással a pozitív vagy negatív teszt eredményekre: Bárium-szulfát (5% m/v), benzalkónium-klorid (1% m/v), ciprofloxacín (0,25% m/v), etanol (1% m/v), sertés gyomor mucin (3,5% m/v), emberi vér (40% v/v), hidrokortizon (1% m/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5%

v/v), leukociták (0,05% m/v), Maalox® Advanced (5% v/v), mesalazin (10% m/v), metronidazol (0,25% m/v), ásványolaj (10% m/v), Mylanta® (4,2 mg/ml), naproxen-nátrium (5% m/v), nonoxynol-9 (40% m/v), nisztatin (1% w/v), palmitinsav/székletzsír (40% m/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), fenilefrin (1% m/v), polietilén-glikol 3350 (10% m/v), Prilosec OTC® (5 µg/ml), szennozidok (1% m/v), szimetikon (10% m/v), sztearinsav/székletzsír (40% m/v), Tagamet® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), emberi vizelet (5% v/v) és vankomicin (0,25% w/v).

PONTOSSÁG – ASSAY-N BELÜLI

Az assay-n belüli teljesítmény meghatározásához tizenkét emberi székletmintát vizsgáltak *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* tesztel. 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 tesztfuttatással, két különböző gyártási számú kit felhasználásával. Minden pannellel futtattak pozitív és negatív kontrollt. Minden pozitív minta pozitív maradt, és minden negatív minta negatív maradt. Az eredmények közötti teljes korreláció 100% volt.

PONTOSSÁG – ASSAY-K KÖZÖTTI

Az assay-k közötti teljesítmény meghatározásához nyolc emberi székletmintát vizsgáltak *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* tesztel. A minták 2 negatív mintát, 2 magas negatív mintát, 2 alacsony pozitív mintát és 2 mérsékelt pozitív mintát tartalmaztak. 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) 320 patogén zimodem (PZ)/ml mellett állapították meg az *E. histolytica* vonatkozásában (tesztenként 15 detektált PZ mennyiséggel egyenértékű). A Protocol™ Cary Blair közegben lévő minták esetében a LoD értékét 275 PZ/ml-ben állapították meg az *E. histolytica* vonatkozásában (tesztenként 14 PZ mennyiséggel egyenértékű). A Para-Pak™ C&S közegben lévő minták esetében a LoD értékét 245 PZ/ml-ben állapították meg az *E. histolytica* vonatkozásában (tesztenként 12 PZ mennyiséggel egyenértékű).

A FRISS ÉS FAGYASZTOTT MINTÁK ÖSSZEHASONLÍTÁSA

Kiértékelésre került a fagyasztott minta hosszú távú tárolásának az antigén stabilitására gyakorolt hatása. Az analízishez összesen 15 székletminta tesztelésére került sor az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* tesztel. A székletminták 3 negatív székletmintából, 3 *E. histolytica* magas negatív székletmintából, 3 *E. histolytica* alacsony pozitív székletmintából, 3 *E. histolytica* mérsékelt pozitív székletmintából és 3 *E. histolytica* magas pozitív székletmintából álltak. Miután a minták elkészültek, tárolásuk $\leq -10^{\circ}\text{C}$ -on történt 0, 1, és 4, 8, 12, 16, 20, 24 és 28 hétig. Semmilyen pozitív-negatív vagy negatív-pozitív konverzió nem volt megfigyelhető egyik mintában sem a megadott időpontokban.

PROZONE

Annak biztosítása érdekében, hogy a magas koncentráció *E. histolytica* antigén ne zavarja a pozitív reakciót az *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* teszt során, magas szintű mintákat állítottak elő negatív székletmennyiség megfelelő dúsításával a klinikai mintákban esetlegesen megfigyelt koncentrációban. Az antigén összesen 5 különböző hígítását készítették el és tesztelték háromszorosan a klinikailag megfigyelt magas koncentrációig bezárólag. Az eredmények azt mutatták, hogy nem volt általános kioltási effektus, és az antigén emelkedett szintje nem befolyásolta az antigén kimutatását.

HU

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

USO PREVISTO

Il test® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ è un dosaggio immunoenzimatico rapido a membrana per la rilevazione qualitativa dell'adesina di Entamoeba histolytica in una cassetta monouso. È 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.

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

Attenzione: la legge federale USA limita la vendita di questo dispositivo ai soli medici o su prescrizione medica

SPIEGAZIONE

L'Entamoeba histolytica e l'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 patogena e causa amebiasi intestinale (ad esempio diarrea, dissenteria, colite) e amebiasi extra-intestinale (ad esempio ascesso epatico). L'E. dispar non è associato a malattia sintomatica e una diagnosi non accurata può sfociare in un trattamento non necessario. Il metodo più comune utilizzato per diagnosticare l'amebiasi è l'analisi al microscopio wet mount, che offre 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 ed E. histolytica all'osservazione. La rilevazione di specie di Entamoeba spp. mediante immunodosaggio offre un metodo di diagnosi alternativo 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 di 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 diluente e coniugato. La miscela di campione diluito e coniugato viene dispensata nel pozzetto del campione 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, che 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 E. histolytica associato a perossidasi di rafano in una soluzione proteica tamponata (contiene ProCin® 300 allo 0,05%)* |
| DIL SPE | Diluente (16 ml) – Soluzione proteica tamponata con contagocce graduato grigio (contiene ProCin® 300 allo 0,05%)* |
| CONTROL + | Controllo positivo (1 ml) – antigene di E. histolytica in una soluzione proteica tamponata (contiene ProCin® 300 allo 0,05%)* |
| SUBS REAG | Substrato (3.5 ml) – Soluzione contenente tetrametilbenzidina |
| WASH REAG | Tampone di lavaggio (12 ml) – Soluzione tamponata con contagocce graduato bianco (contiene ProCin® 300 allo 0,05%)* |
- * (contiene ProCin® 300 allo 0,05%)
Parola d'avviso: Avvertenza
H317:Può provocare una reazione allergica cutanea
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



Pipette in plastica monouso (50) – Graduate a 25 µl, 100 µl, 200 µl, 300 µl, 400 µl e 500 µl

MATERIALI E APPARECCHIATURE RICHIESTI MA NON FORNITI

- Provette piccole (per esempio provette per microcentrifuga in plastica)
- Guanti monouso
- Pipettatore e puntali
- stick applicatori in legno
- 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.

PRECAUTIONS

1. Solo dietro presentazione di ricetta medica
2. Solo per uso professionale.
3. 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 perdite.
4. Portare tutti i componenti a temperatura ambiente prima dell'uso per garantire una reattività adeguata del kit.
5. Il reagente *substrato* deve essere incolore. Se il reagente *substrato* assume un colore blu scuro/viola, smaltirlo e contattare il servizio tecnico per chiedere la sostituzione.
6. Non miscelare e scambiare reagenti di kit diversi. Non utilizzare un kit dopo la data di scadenza.
7. I cappucci, i puntali e i contagocce seguono un codice colore; NON mischiarli o scambiarli!
8. Per ottenere risultati ottimali utilizzare campioni fecali secondo le raccomandazioni riportate nella seguente tabella. I campioni congelati possono perdere reattività in seguito al congelamento e allo scongelamento. I campioni fecali non trattati che vengono conservati congelati possono essere

scongelati fino a 5 volte. I campioni fecali in terreni di trasporto conservati congelati possono essere scongelati una sola volta. Durante la conservazione dei campioni, evitare temperature estreme e tenere lontano dalla luce solare diretta.

- 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.
- I reagenti *coniugato*, *diluyente*, *controllo positivo* e *tampone di lavaggio* contengono ProClin® 300 allo 0,05% come conservante. Benché la concentrazione sia bassa, è noto che ProClin® 300 è dannoso (può verificarsi sensibilizzazione cutanea). In caso di sensibilizzazione/irritazione o rash cutaneo, rivolgersi a un medico. Togliere gli indumenti contaminati e lavarli prima di riutilizzarli. Manipolare i reagenti attenendosi alle disposizioni vigenti in materia di sicurezza e buone pratiche di laboratorio. Le schede tecniche di sicurezza per questo prodotto sono disponibili su richiesta; rivolgersi all'assistenza tecnica.
- Attenersi alle disposizioni nazionali, regionali e locali per quanto riguarda lo smaltimento dei rifiuti.

RACCOLTA, TRATTAMENTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI FECALI

| Tipi di campioni accettabili |
|--|
| Campioni fecali freschi |
| Campioni fecali congelati (congelati non diluiti) |
| Campioni fecali in terreni di trasporto (ad esempio Cary Blair, C&S) |

| Non usare |
|---|
| Campioni fecali in fissativo a base di formalina (ad esempio formalina e sodio acetato, formalina al 10%) |
| Campioni fecali in fissativo a base di alcol (ad esempio alcol polivinilico) |

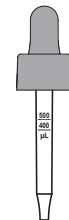
| Temperatura di conservazione dei campioni | Durata di conservazione accettabile | Commenti |
|---|-------------------------------------|--|
| Temperatura ambiente (18 °C - 25 °C) | 24 ore | I campioni freschi che saranno testati entro 24 ore possono rimanere a temperatura ambiente (18 °C - 25 °C). Se il test non è pianificato entro le 24 ore, refrigerare (2 °C - 8 °C) il più presto possibile dopo la raccolta. |
| Refrigerato (2 °C - 8 °C) | 1 settimana | |
| Congelato ≤ -10 °C | 7 mesi | Congelare i campioni e conservarli a ≤ -10 °C se l'analisi non può essere eseguita entro 1 settimana dalla raccolta. Scongelare a temperatura ambiente. Il congelamento e lo scongelamento ripetuti possono comportare una perdita dell'attività dei campioni in seguito a degradazione dell'antigene. |

- Utilizzare le procedure di raccolta e trattamento interne standard per i campioni fecali. Raccogliere i campioni fecali in contenitori puliti, a prova di perdita.
- Non conservare i campioni fecali nel diluente.

PROCEDURA DI ANALISI

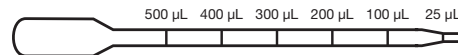
- Prestare attenzione al tempo totale di dosaggio quando si analizza più di un campione fecale.
- Prima dell'utilizzo portare tutti i reagenti a temperatura ambiente. Rimuovere i reagenti dall'inserito in espanso per ridurre il tempo necessario per il riscaldamento a temperatura ambiente.
- Preparare ed etichettare una provetta piccola per ogni campione e i controlli esterni opzionali.
- Utilizzando un contagocce graduato grigio, dispensare 500 µl di *diluyente* (2° graduazione sul puntale) in ogni provetta per campioni freschi e congelati, e per controlli esterni. Per i campioni nei terreni di trasporto come Cary Blair o C&S, dispensare 400 µl (1° graduazione sul puntale) di *diluyente* nella provetta.

| Tipo di campione | Volume di diluyente |
|--|-------------------------------------|
| Campioni fecali freschi | 500 µl (2° graduazione sul puntale) |
| Campioni fecali congelati (congelati non diluiti) | 500 µl (2° graduazione sul puntale) |
| Campioni in terreni di trasporto (Cary Blair, C&S) | 400 µl (1° graduazione sul puntale) |
| Controlli esterni (positivo e negativo) | 500 µl (2° graduazione sul puntale) |



- 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.

Campioni fecali in terreno di trasporto Cary Blair o C&S - pipettare 100 µl (2 gocce dalla pipetta di trasferimento) di campione nella miscela di *diluyente/coniugato*.

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 falso negativo. La dispensazione di una quantità eccessiva di campione può causare risultati non validi a causa del flusso limitato.

8. Controlli esterni opzionali:

Le cassette di controllo opzionali possono essere utilizzate contemporaneamente con i campioni dei pazienti.

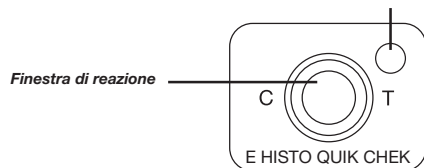
Controllo positivo esterno - aggiungere una goccia di *controllo positivo* (flacone con tappo grigio) nella provetta appropriata.

Controllo negativo esterno - aggiungere 25 µl di *diluyente* nella provetta appropriata.

9. Per tutti i campioni di test e controllo, chiudere le provette, miscelare accuratamente con un vorticolatore 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*.
10. Aprire una busta con il *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 del campione* si trovi nell'angolo in alto a destra del dispositivo.

Dispositivo a membrana

Pozzetto del campione



11. 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 del campione (foro più piccolo nell'angolo in alto a destra del dispositivo) di un dispositivo a membrana.** Durante l'aggiunta del campione nel *pozzetto del campione*, assicurarsi che il puntale della pipetta di trasferimento si trovi all'interno del foro del *pozzetto* e sia angolato verso la *finestra di reazione* e sul *tampone di drenaggio*.
12. **Incubare il dispositivo a temperatura ambiente per 15 minuti** – il campione migrerà 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 diluyente nel *pozzetto del campione* e attendere altri 5 minuti (per un totale di 20 minuti). Proseguire con il passaggio successivo della procedura di test.
13. **Dopo l'incubazione, aggiungere 300 µl di tampone di lavaggio alla finestra di reazione centrale utilizzando il contagocce bianco graduato.** Consentire al tampone di lavaggio di essere completamente assorbito.

14. **Dispensare 2 gocce di substrato (flacone con il tappo bianco) nella finestra di reazione centrale.**

15. Incubare per 10 minuti a temperatura ambiente. Leggere visivamente e registrare i risultati dopo 10 minuti.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI



Risultato positivo



Risultato negativo



Risultato non valido



Risultato non valido

1. L'interpretazione del test è più affidabile quando il dispositivo viene letto dopo lo scadere del periodo di reazione di 10 minuti. Leggere il dispositivo a una distanza di lavoro normale in un'area ben illuminata. Osservare con una linea d'osservazione direttamente sul dispositivo.
2. Osservare se nel dispositivo sul lato "C" della *finestra di reazione* compare una riga blu che rappresenta la riga del controllo positivo interno. Osservare se nel dispositivo sul lato "T" della *finestra di reazione* compare una riga blu che rappresenta la riga di test. Le linee possono avere un'intensità da debole a scura.
3. Risultato positivo: un risultato positivo può essere interpretato in qualunque momento tra la dispensazione del *substrato* e il tempo di lettura di 10 minuti. Sono visibili due linee blu, la linea di controllo ("C") e la linea di test ("T"). Le linee possono avere un'intensità da debole a scura. La comparsa di una linea blu sul lato "T" insieme a una linea di controllo blu viene interpretata come risultato positivo. Una linea parziale evidente viene interpretata come risultato positivo. Non interpretare un'alterazione di colore della membrana o un'ombra come risultato positivo. Un risultato positivo indica la presenza di *E. histolytica*.
4. Risultato negativo: un test non può essere interpretato come negativo o non valido fino a 10 minuti dopo la dispensazione del *substrato*. È visibile una singola riga blu sul lato ("C") del controllo della *finestra di reazione* e non è visibile alcuna riga sul lato "T" della *finestra di reazione*. Un risultato negativo indica che *E. histolytica* è assente nel campione oppure è al di sotto del limite di rilevazione del test.
5. Risultato non valido: è visibile una singola riga sul lato "T" del test 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 del periodo di reazione.

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 test *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

1. 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.
2. Il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* è qualitativo. L'intensità del colore non deve essere interpretata in termini quantitativi.
3. A causa della limitata quantità di campioni positivi raccolti durante lo studio clinico prospettico, le caratteristiche prestazionali del test per *E. histolytica* sono state stabilite anche con campioni clinici retrospettivi.
4. Il trasferimento di una quantità insufficiente di campione o la mancata miscelazione e sospensione completa del campione nella miscela di *diluente/coniugato* possono dare un risultato falso negativo. La dispensazione di una quantità eccessiva di campione può causare risultati non validi a causa del flusso limitato.

VALORI ATTESI

I normali soggetti sani non dovrebbero 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 il soggetto sta eliminando quantità rilevabili di antigene di *E. histolytica*. L'incidenza dell'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 questi soggetti rimane asintomatico, mentre circa il 10% sviluppa sintomi clinici variabili da malattia gastrointestinale ad accessi epatici. I gruppi ad alto rischio includono persone che hanno viaggiato all'estero, immigrati, soggetti immunocompromessi, lavoratori migranti e omosessuali maschi sessualmente attivi (2, 3). Tra gli omosessuali maschi, i ceppi non patogeni (*E. dispar*) sono predominanti (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 metodo di riferimento composito (CRM), che include la rilevazione molecolare di *Entamoeba histolytica*. Sono stati valutati in totale 851 campioni fecali e inclusi 96 campioni retrospettivi. Informazioni sull'età erano disponibili per 851 pazienti. Degli 851 pazienti, il 18,9% era ≤ 20 anni. Le informazioni sul sesso erano disponibili per 851 pazienti, di cui il 42,7% era costituito da maschi e il 57,3% da femmine. Le tabelle 1 e 2 mostrano un riepilogo delle prestazioni cliniche del test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. La tabella 1 rappresenta i risultati per i campioni prospettici dei 755 campioni raccolti in modo prospettico; 100 dei campioni raccolti in modo prospettico sono stati diluiti in Protocol™ Cary-Blair e Para-Pak® C&S. Tutti i campioni diluiti nei terreni di trasporto e testati erano negativi. I test prospettici hanno mostrato che il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* ha una sensibilità del 40,0%, una specificità del 100%, un valore predittivo positivo del 100% e un valore predittivo negativo del 99,6% con il CRM. La tabella 2 rappresenta i risultati dei campioni retrospettivi, che dimostrano come il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* abbia una sensibilità e una specificità del 100% con il CRM.

Tabella 1. Riepilogo delle prestazioni cliniche prospettiche del confronto tra il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* e i campioni prospettici con il metodo di riferimento composito (CRM)

| N = 755 | Metodo di riferimento composito positivo | Metodo di riferimento composito negativo |
|---|--|--|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positivo | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativo | 3 | 750 |
| | | Limiti di confidenza 95% |
| Sensibilità | 40,0% | 7,3% - 83,0% |
| Specificità | 100% | 99,4% - 100% |
| Valore positivo predittivo | 100% | 19,8% - 100% |
| Valore negativo predittivo | 99,6% | 98,7% - 99,9% |

Tutti e tre i risultati falsi negativi erano PCR positivi e antigeni negativi. Il test antigenico aggiuntivo è stato eseguito con un dispositivo precedentemente autorizzato dalla FDA.

Tabella 2. Riepilogo delle prestazioni cliniche retrospettive del confronto tra il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* e i campioni retrospettivi con il metodo di riferimento composito (CRM)

| N = 96 | Metodo di riferimento composito positivo | Metodo di riferimento composito negativo |
|---|--|--|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positivo | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativo | 0 | 66 |
| | | Limiti di confidenza 95% |
| Sensibilità | 100% | 85,9% - 100% |
| Specificità | 100% | 93,1% - 100% |

RIPRODUCIBILITÀ

La riproducibilità del test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* è stata determinata utilizzando 8 campioni fecali che sono stati codificati per prevenirne l'identificazione durante il test. Il test è stato eseguito in 2 laboratori indipendenti e in sede presso TECHLAB, Inc. I campioni comprendevano 2 campioni negativi, 2 campioni a elevata negatività, 2 campioni a bassa positività e 2 campioni a moderata positività. I campioni sono stati testati in triplicato, due volte al giorno per un periodo di 5 giorni, da più tecnici presso ciascun centro, 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 sedi e hanno evidenziato una correlazione del 100%. I campioni hanno prodotto i risultati attesi il 100% delle volte.

REATTIVITÀ CROCIATA

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

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

Clostridium difficile
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Escherichia coli O157:H7
Escherichia coli EIEC
Escherichia coli EPEC
Escherichia coli ETEC
Klebsiella pneumoniae
Salmonella typhimurium

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

Adenovirus, 2, 5, 40, 41
Coxsackievirus B5
Echovirus 11, 18, 22, 33
Enterovirus 68, 69

Adenovirus umano 1, 3
Coronavirus umano
Coxsackievirus umano B2, B3, B4
Echovirus umano 9

Enterovirus umano 69, 70, 71
Parechovirus umano 1
[Echovirus 22]
Rotavirus umano

La reattività crociata con Norovirus non è nota perché non è stata testata in studi analitici. Tuttavia, Norovirus GI/GII è stato identificato in 50 campioni clinici usando un dosaggio NAAT multiplex autorizzato dalla FDA durante i test clinici e non è stata trovata alcuna reattività crociata usando il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* in quei campioni.

Inoltre il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* è stato eseguito su campioni fecali con positività per altri parassiti documentata alla microscopia. Il numero tra parentesi è la quantità di campioni clinici in cui è stato identificato ogni microrganismo. Non è stata osservata alcuna reattività crociata con i seguenti microrganismi.

Ascaris lumbricoides con uova (21)
Blastocystis hominis (12)
Cryptosporidium spp. (30)

Entamoeba bangladeshi (3)
Entamoeba coli (13)
Entamoeba moshkovskii (3)

Giardia spp. (45)
Iodamoeba bütschlii (10)
Trichuris trichiura, uova (11)

STUDIO di SPECIFICITÀ del CEPPO

La specificità del test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* è stata anche valutata esaminando la reattività degli zimodemi (ceppi) patogeni (*Entamoeba histolytica*) e non patogeni (*Entamoeba dispar*) e la reattività nelle diluizioni con curva standard. I risultati di *E. histolytica* sono stati positivi da 244 a 30,5 zimodemi patogeni (PZ)/ml e i risultati di *E. dispar* sono stati negativi in tutte le diluizioni a partire da 2440 zimodemi non patogeni (NPZ)/ml. Il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* dimostra reattività adeguata con *Entamoeba histolytica* e non reattività crociata con *Entamoeba dispar*.

Inoltre, data l'analogia nella morfologia, 3 campioni identificati mediante PCR come positivi per *Entamoeba moshkovskii* e 3 positivi per *Entamoeba bangladeshi* sono stati valutati usando il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Questi 6 campioni sono risultati tutti negativi al test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*.

SOSTANZE INTERFERENTI (FORMULAZIONE USA)

Le seguenti sostanze non hanno dimostrato alcun effetto sui risultati positivi o negativi del test analizzati alle concentrazioni indicate: solfato di bario (5% p/v), cloruro di benzalconio (1% p/v), ciprofloxacina (0,25% p/v), etanolo (1% p/v), mucina gastrica di maiale (3,5% p/v), sangue umano (40% v/v), idrocortisone (1% v/v), Imodium® (0,05% v/v), Kaopectate® (5% v/v), leucociti (0,05% p/v), Maalox® Advanced (0,25% v/v), mesalazina (10% p/v), metronidazolo (0,25% p/v), olio minerale (10% p/v), Mylanta® (4,2 mg/ml), naprossene sodico (5% p/v), nonoxinol-9 (40% p/v), nistatina (1% p/v), acido palmítico/grasso fecale (40% p/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), fenilefrina (1% p/v), polietilenglicole 3350 (10% p/v), Prilosec OTC® (5 µg/ml), sennosidi (1% p/v), simeticone (10% p/v), acido stearico/grasso fecale (40% p/v), Tagamet® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), urina umana (5% v/v), e vancomicina (0,25% p/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 sono rimasti positivi e tutti i campioni negativi sono rimasti negativi. La correlazione complessiva tra i risultati è stata del 100%.

PRECISIONE INTERTEST

Per la determinazione delle prestazioni intertest, otto campioni fecali umani sono stati analizzati utilizzando il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. I campioni hanno incluso 2 campioni negativi, 2 campioni a bassa negatività, 2 campioni a bassa positività e 2 campioni a moderata positività. 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 sono rimasti positivi e tutti i campioni negativi sono rimasti negativi.

SENSIBILITÀ ANALITICA

Il limite di rilevazione (LoD) stabilito per il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* era di 320 zimodemi patogeni (PZ)/ml per *E. histolytica* (equivalenti a 15 PZ rilevati per ogni test). Per i campioni in terreni Protocol™ Cary Blair, il LoD stabilito per *E. histolytica* era di 275 PZ/ml (equivalenti a 14 PZ rilevati per ogni test). Per i campioni in terreni Para-Pak® C&S, il LoD stabilito per *E. histolytica* era di 245 PZ/ml (equivalenti a 12 PZ rilevati per ogni test).

CAMPIONI FRESCHI RISPETTO A CONGELATI

È stato valutato l'effetto della conservazione del campione congelato a lungo termine sulla stabilità dell'antigene. Per l'analisi, è stato valutato con il test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* un totale di 15 campioni fecali umani. I campioni fecali hanno incluso 3 campioni fecali negativi, 3 campioni fecali a elevata negatività per *E. histolytica*, 3 campioni fecali a debole positività per *E. histolytica*, 3 campioni fecali a moderata positività per *E. histolytica* e 3 campioni fecali a elevata positività per *E. histolytica*. I campioni sono stati preparati e conservati a ≤ -10 °C alla settimana 0, 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28. Non è stata osservata alcuna conversione da positivo a negativo o da negativo a positivo in nessuno dei campioni nei punti temporali specificati.

PROZONA

Per garantire che non vi sia alcuna interferenza fra una concentrazione elevata di antigene di *E. histolytica* e una reazione positiva del test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*, sono stati preparati campioni a concentrazione elevata arricchendo un pool fecale negativo e portandolo alla stessa concentrazione eventualmente osservata nei campioni clinici. In totale, sono state preparate e testate in triplicato 5 diverse diluizioni dell'antigene, fino a includere la concentrazione elevata osservata clinicamente. I risultati hanno dimostrato che non esiste alcuna influenza di prozona globale, e che livelli elevati di antigene non hanno influenzato la rilevazione dell'antigene.

For Informational Use Only

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

BEOOGD GEBRUIK

De TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ is een snelle membraanenzymimmuuntest 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.

VOOR IN VITRO DIAGNOSTISCH GEBRUIK

Opgelet: Volgens de federale wetgeving van de VS mag dit artikel alleen door of in opdracht van een arts verkocht worden

UITLEGGING

Entamoeba histolytica and *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 lijdt 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 immuuntest biedt een alternatieve diagnosemethode met een grotere gevoeligheid (2). Immunoesten 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 in verband met het assay.

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 (bevat 0,05% ProClin® 300)*
 - DIL SPE** Verdunner (16 ml) – Gebufferde eiwitoplossing met grijs gegradueerde druppelaarconstructie (bevat 0,05% ProClin® 300)*
 - CONTROL +** Positieve controle (1 ml) – *E. histolytica* antigeen in een gebufferde eiwitoplossing (bevat 0,05% ProClin® 300)*
 - SUBS REAG** Substraat (3.5 ml) – Oplossing die tetramethylbenzidine bevat
 - WASH REAG** Wasbuffer (12 ml) – Gebufferde oplossing met wit gegradueerde druppelaarconstructie (bevat 0,05% ProClin® 300)*
- * (bevat 0,05% ProClin® 300)
Signaalwoord: Waarschuwing
H317: Kan een allergische huidreactie veroorzaken
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501



Plastic wegwerp pipetten (50) – Gegradueerd op 25 µL, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL en 500 µL

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. Alleen recept – Alleen op voorschrift
2. Enkel voor professioneel gebruik.
3. 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.
4. Breng alle componenten voor het gebruik op kamertemperatuur om de juiste reactiviteit van de kit te verzekeren.

- Het *substraat*-reagens moet kleurloos zijn. Als het *substraat*-reagens verandert in een donkerblauwe/ violette kleur, gooit u het weg en belt u de technische dienst voor een vervanging.
- Reagentia uit verschillende sets mogen niet worden gemengd of onderling uitgewisseld. Gebruik geen set na de vervaldatum.
- Doppen, punten en druppelaarconstructies zijn kleurgecodeerd; NIET mengen of onderling uitwisselen!
- Gebruik fecale monsters volgens de aanbevelingen in de onderstaande tabel om optimale resultaten te verkrijgen. Specimens die zijn bevroren kunnen door bevroren en ontdooien hun reactiviteit verliezen. Onbewerkte fecale monsters die in bevroren toestand bewaard worden, kunnen tot 5 keer ontdooid worden. Fecale monsters in transportmedia die in bevroren toestand bewaard worden, kunnen één keer ontdooid worden. Bij het bewaren van de monsters dient u extreme temperaturen te vermijden en u dient de monsters uit direct zonlicht te houden.
- De test is 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 gespecificeerde 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 doet.
- De *Conjugaat*, *Verdunner*, *Positieve Controle* en *Wasbuffer* reagentia bevatten 0,05% ProClin® 300 als een conserveringsmiddel. De concentratie is weliswaar laag, maar ProClin® 300 staat bekend als schadelijk (huidsensibilisatie kan optreden). Als er huidsensibilisatie, -irritatie of -uitslag optreedt, vraag dan medisch advies/medische hulp. Doe vervuilde kleding uit en was deze, voordat u ze opnieuw gebruikt. Hanteer de reagentia in overeenstemming met de bestaande regelgeving voor laboratoriumveiligheid en goede laboratoriumpraktijken. Op aanvraag zijn veiligheidsinformatiebladen voor dit product verkrijgbaar, neem contact op met de technische ondersteuning.
- Volg daarom uw nationale, regionale en lokale verordeningen voor afvalverwijderingsregelgeving.

VERZAMELING, HANTERING EN OPSLAG VAN FECALE MONSTERS

| Aanvaardbare monstertypen |
|---|
| Verse fecale monsters |
| Bevroren fecale monsters (onverdund bevroren) |
| Fecale monsters in transportmedia (bijv. Cary Blair, C&S) |

| Niet gebruiken |
|---|
| Fecale monsters in op formaleïne gebaseerd fixeermiddel (bijv. natriumacetaat/formaline, 10% formaline) |
| Fecale monsters in op alcohol gebaseerd fixeermiddel (bijv. polyvinylalcohol) |

| Temperatuur opslag monsters | Aanvaardbare opslagduur | Opmerkingen |
|----------------------------------|-------------------------|--|
| Temperatuur opslag monsters | 24 uur | Verse monsters die binnen 24 uur worden getest kunnen op kamertemperatuur blijven (18 °C – 25 °C). Wanneer het testen niet binnen <24 uur is gepland, zo snel mogelijk na verzameling (2 °C – 8 °C) in de koelkast plaatsen. |
| Kamertemperatuur (18 °C – 25 °C) | 1 week | |

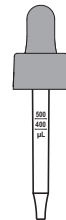
| Temperatuur opslag monsters | Aanvaardbare opslagduur | Opmerkingen |
|-----------------------------|-------------------------|--|
| Bevroren ≤ -10 °C | 7 maanden | Bevries monsters en bewaar ze ≤ -10 °C als de test niet binnen 1 week na verzameling kan worden uitgevoerd. Ontdooien op kamertemperatuur. Verscheidene keren bevroren en ontdooien kan leiden tot verlies van monsteractiviteit door antigendegradatie. |

- Gebruik standaard bedrijfsverzamelings- en hanteringsprocedures voor fecale monsters. Verzamel fecale monsters in schone, lekvrije bakjes.
- Bewaar fecale monsters niet in de verdunner.

TESTPROCEDURE

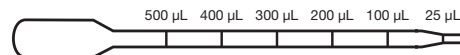
- Let op de totale testperiode wanneer u meer dan één fecaal monster test.
- Breng alle reagentia en hulpmiddelen voor het gebruik op kamertemperatuur. Verwijder de reagentia uit het schuim/leggedeelte om de tijd die nodig is om tot kamertemperatuur op te warmen te verkorten.
- Stel voor elk monster en elke optionele externe controle een kleine testbuis op en label deze.
- Gebruik de grijs geïsoleerde druppelaarconstructie, voeg 500 µL (2e graduatie vanaf de punt) verdunner toe aan elke buis voor verse en bevroren monsters en externe controles. Voor monsters in transportmedia zoals Cary Blair of C&S, voegt u 400 µL (1e graduatie vanaf de punt) verdunner toe aan de buis.

| Monstertype | Volume verdunner |
|---|-------------------------------------|
| Verse fecale monsters | 500 µL (2e graduatie vanaf de punt) |
| Bevroren fecale monsters (onverdund bevroren) | 500 µL (2e graduatie vanaf de punt) |
| Monsters in transportmedia (Cary Blair, C&S) | 400 µL (1e graduatie vanaf de punt) |
| Externe controles (positief en negatief) | 500 µL (2e graduatie vanaf de punt) |



- Voeg een druppel conjugaat (fles met de rode dop) toe aan elke buis. Houd de druppelaar 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.

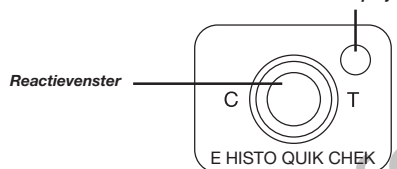
Gegradeerde overbrengpipet:



7. **Voor vloeibare/halfvaste monsters** - Meng het monster grondig. Gebruik een overbrenpipet, 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. Emulgeer het monster met behulp van de applicatorstick.
- Fecale specimens in Cary Blair of C&S transportmedia** - pipetteer 100 µL (2 druppels van overdichtpipet) van het monster in het mengsel van *verdunningsmiddel/conjugaat*.
- 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 vals-negatief testresultaat. Toevoeging van te veel monster kan leiden tot ongeldige resultaten vanwege een beperkte doorstroming.
8. **Optionele externe controles:**
Er kunnen tegelijkertijd met de patiëntmonsters optionele controlecassettes worden uitgevoerd. **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.
9. Voor alle test- en controlemonsters, sluit de buisjes en meng ze grondig met behulp van een vortexmixer of door het buisje verschillende keren om te keren. Monsters of controles verdun in het *verdunner/conjugaat*-mengsel kunnen tot 2 uur worden geïncubeerd op kamertemperatuur voordat ze in het *membraaninstrument* worden aangebracht.
10. 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



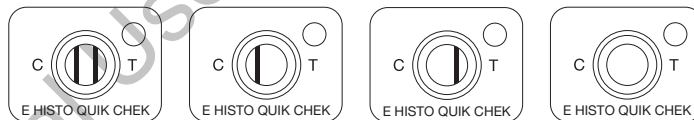
11. Zorg ervoor dat elk verdund monster grondig wordt gemengd (zie stap 9) voordat dit in het membraaninstrument wordt aangebracht. **Gebruik een nieuwe overbrenpipet, breng 500 µL (bovenste graduatie) uit elk buisje over in het monsterputje (kleinere opening in de rechterbovenhoek van het instrument) van een membraaninstrument.** Als u het monster in het monsterputje aanbrengt, dient u zich ervan te overtuigen dat de punt van de overbrenpipet in het gat van het monsterputje en in een hoek ten opzichte van het reactivenster staat.
12. **Incubeer de cassette gedurende 15 minuten op kamertemperatuur – het monster zal door de cassette afvloeien en er zal zich een vochtig gebied over het Reactievenster verspreiden.** De 15-minuten incubatiestap 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 reactivenster niet volledig nat. Als het reactivenster 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 centralereactivenster, gebruik daarbij de gegraduateerde witte druppelaarconstructie.** Laat de wasbuffer volledig absorberen.
14. **Voeg 2 druppels substraat toe (fles met witte dop) aan het reactivenster.**
15. Incubeer 10 minuten op kamertemperatuur. Lees de visuele resultaten af en registreer ze na 10 minuten.

INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN



Positief resultaat

Negatief resultaat

Ongeldig resultaat

Ongeldig resultaat

- De interpretatie van de test is het betrouwbaarst wanneer het instrument onmiddellijk aan het eind van de 10 minuten durende reactieperiode wordt afgelezen. Lees het instrument op een normale werkafstand af in een goed verlichte ruimte. Kijk met de gezichtslijn direct over het instrument.
- Observeer het instrument op de verschijning van een blauwe lijn aan de "C"-zijde van het reactivenster die de interne positieve controlelijn voorstelt. Observeer het instrument op de verschijning van een blauwe lijn aan de "T"-zijde van het reactivenster die de testlijn voorstelt. De lijnen kunnen een zwakke tot donkere intensiteit hebben.
- Positief resultaat: Een positief resultaat kan op elk tijdstip tussen de toevoeging van substraat en de leestijd van 10 minuten worden geïnterpreteerd. Er zijn twee blauwe lijnen zichtbaar, de controlelijn ("C") en de testlijn ("T"). De lijnen kunnen een zwakke tot donkere intensiteit hebben. Een blauwe lijn aan de "T"-zijde in combinatie met een blauwe controlelijn duidt op een positief resultaat. Een duidelijke gedeeltelijke lijn wordt geïnterpreteerd als een positief resultaat. Interpreteer een membraanverkleuring of schaduw niet als een positief resultaat. Een positief resultaat duidt op de aanwezigheid van *E. histolytica*.
- Negatief resultaat: Een test kan voor afloop van de 10 minuten volgend op de toevoeging van het substraat niet worden geïnterpreteerd als negatief of ongeldig. Er is een enkele blauwe lijn zichtbaar op de "C" controlezijde van het reactivenster en er is geen testlijn zichtbaar aan de "T"-zijde van het reactivenster. Een negatief resultaat geeft aan dat het *E. histolytica*-antigen ofwel afwezig is in het monster of onder de detectiegrens van de test ligt.
- Ongeldig resultaat: Er is een enkele lijn zichtbaar aan de testzijde ("T") van het reactivenster, of er zijn geen lijnen in het reactivenster zichtbaar. Het testresultaat 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* (verdunder) 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 testen worden uitgevoerd met de controles om tegemoet te komen aan de eisen van plaatselijke, nationale en/of federale regelgevingen en/of accrediterende 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.
3. Door het kleine aantal positieve monsters dat wordt verzameld tijdens de prospectieve klinische studie, werden prestatiekenmerken voor *E. histolytica* ook vastgesteld met retrospectieve klinische monsters.
4. Als er een te klein monster wordt overgebracht, of als het monster niet gemengd en volledig gesuspenderd is in het *verdunder-/conjugaat*-mengsel, kan dit leiden tot een vals-negatief testresultaat. Toevoeging van te veel monster kan leiden tot ongeldige resultaten vanwege een beperkte doorstroming.

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*-antigen afgeeft. De incidentie van *E. histolytica* infectie varieert aanzienlijk tussen bevolkingsgroepen en geografische regio's. 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, immuungecompromiteerde 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 een Compositiereferentiemethode (CRM), die een moleculaire detectie van *Entamoeba histolytica* omvatte. Er werden in totaal 851 fecale monsters beoordeeld en deze omvatten 96 retrospectieve monsters. Informatie over de leeftijd

was beschikbaar voor 851 patiënten. Van de 851 patiënten waren er 18,9% ≤ 20 jaar. Voor 851 patiënten was informatie beschikbaar over het geslacht en 42,7% waren man en 57,3% waren vrouw. Tabel 1 en 2 tonen een samenvatting van de klinische prestatie van de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-test. Tabel 1 vertegenwoordigt de resultaten van de prospectieve monsters, van de 755 prospectief verzamelde monsters, 100 van de prospectief verzamelde monsters werden verdund in Protocol™ Cary-Blair en Para-Pak® C&S. Alle monsters die werden verdund in transportmedia en getest werden, waren negatief. De prospectieve test toonde niet aan dat de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test een gevoeligheid vertoonde van 40,0%, met een specificiteit van 100%, een voorspellende positieve waarde van 100%, en een voorspellende negatieve waarde van 99,6% met de CRM. Tabel 2 vertegenwoordigt de resultaten voor de retrospectieve monsters die aantoonde dat de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-test een gevoeligheid en specificiteit vertoonde van 100% met de CRM.

Tabel 1. Samenvatting van prospectieve klinische prestatie vergelijkt de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test met de Compositiereferentiemethode (CRM) Prospectieve monsters

| N = 755 | Compositiereferentiemethode positief | Compositiereferentiemethode negatief |
|---|--------------------------------------|--------------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positief | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negatief | 3 | 750 |

| | | 95% betrouwbaarheidsinterval |
|--------------------------------|-------|------------------------------|
| Gevoeligheid | 40,0% | 7,3% - 83,0% |
| Specificiteit | 100% | 99,4% - 100% |
| Voorspellende positieve waarde | 100% | 19,8% - 100% |
| Voorspellende negatieve waarde | 99,6% | 98,7% - 99,9% |

De drie vals-negatieve resultaten waren PCR-positief en antigen-negatief. Er werd een aanvullende antigenetest uitgevoerd met een eerder vrijgegeven FDA instrument.

Tabel 2. Samenvatting van prospectieve klinische prestatie vergelijkt de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* test met de Compositiereferentiemethode (CRM) retrospectieve monsters

| N = 96 | Compositiereferentiemethode positief | Compositiereferentiemethode negatief |
|---|--------------------------------------|--------------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positief | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negatief | 0 | 66 |

| | | 95% betrouwbaarheidsinterval |
|---------------|------|------------------------------|
| Gevoeligheid | 100% | 85,9% - 100% |
| Specificiteit | 100% | 93,1% - 100% |

REPRODUCEERBAARHEID

De reproduceerbaarheid van de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-test werd bepaald met behulp van 8 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 omvatten 2 negatieve monsters, 2 uiterst negatieve monsters, 2 laag positieve monsters en 2 matig positieve monsters.

De monsters werden op elke site gedurende een periode van 5 dagen met behulp van 2 verschillende kitlots in drievoud twee keer per dag getest door verscheidene technici. 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> O157:H7 | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| <i>Campylobacter coli</i> | <i>Escherichia coli</i> EIEC | <i>Staphylococcus aureus</i> (Cowán's) |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | <i>Escherichia coli</i> EPEC | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| <i>Campylobacter jejuni</i> | <i>Escherichia coli</i> ETEC | <i>Vibrio parahaemolyticus</i> |
| <i>Candida albicans</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | <i>Yersinia enterocolitica</i> |
| <i>Clostridium bifermens</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 |

Kruisreactiviteit met Norovirus is onbekend omdat het niet werd getest in analytische studies. Maar Norovirus GI/GII werd geïdentificeerd in 50 klinische monsters met een FDA vrijegegeven multiplex NAAT-test tijdens klinische tests en er werd geen kruisreactiviteit gevonden met gebruik van de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* in die monsters.

Bovendien werd de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-test uitgevoerd op fecale monsters die door middel van microscopie positief gedocumenteerd waren voor andere parasieten. Het cijfer tussen haakjes is het aantal klinische monsters waarin elk organisme werd geïdentificeerd. Er werd geen kruisreactiviteit gezien met de volgende organismen.

| | | |
|--|----------------------------------|--------------------------------------|
| <i>Ascaris lumbricoides</i> en met eieren (21) | <i>Entamoeba bangladeshi</i> (3) | <i>Giardia spp.</i> (45) |
| <i>Blastocystis hominis</i> (12) | <i>Entamoeba coli</i> (13) | <i>Iodamoeba bütschlii</i> (10) |
| <i>Cryptosporidium spp.</i> (30) | <i>Entamoeba moshkovskii</i> (3) | <i>Trichuris trichiura</i> eggs (11) |

STAMSPECIFIEKE STUDIE

De specificiteit van de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-test werd ook beoordeeld door het onderzoek van de reactiviteit van pathogene (*Entamoeba histolytica*) en niet-pathogene (*Entamoeba dispar*) zymodemen (stammen) op reactiviteit via standaard curveverduunningen. *E. histolytica* resultaten waren positief van 244 tot 30,5 pathogene zymodemen (PZs)/mL en de *E. dispar* resultaten waren negatief voor alle verduunningen die begonnen op 2440 niet-pathogene zymodemen (NPZs)/mL. De *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-test demonstreert de juiste reactiviteit met *Entamoeba histolytica* en voert geen kruisreactie uit met *Entamoeba dispar*.

Dankzij de gelijkaardige morfologie, werden bovendien 3 monsters geïdentificeerd door PCR als positief voor *Entamoeba moshkovskii* en 3 positief voor *Entamoeba bangladeshi* werden beoordeeld met de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-test. Deze 6 monsters testten allemaal negatief in de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-test.

INTERFERERENDE STOFFEN (VS-FORMULERING)

De volgende stoffen hadden geen effect op positieve of negatieve testresultaten die in de aangegeven concentraties werden geanalyseerd: Bariumsulfaat (5% w/v), Benzalkoniumchloride (1% w/v), Ciprofloxacine (0.25% w/v), Ethanol (1% w/v), Hog gastrische mucine (3.5% w/v), menselijk bloed (40% v/v), Hydrocortisone (1% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Leukocyten (0.05% w/v), Maalox® Advanced (5% v/v), Mesalazine (10% w/v), Metronidazole (0.25% w/v), minerale olie (10% w/v), Mylanta® (4.2 mg/mL), Naproxennatrium (5% w/v), Nonoxynol-9 (40% w/v), Nystatine (1% w/v), Palmitsch zuur/Fecaal vet (40% w/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Fenylefrine (1% w/v), Polyethyleenglycol 3350 (10% w/v), Pripsec OTC® (5 µg/mL), Sennosiden (1% w/v), Simethicone (10% w/v), sterisch zuur/fecaal vet (40% w/v), Tagamet® (5 µg/mL), TUMS (50 µg/mL), menselijke urine (5% v/v), en Vancomycine (0.25% w/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. De algemene correlatie tussen de resultaten was 100%.

PRECISIE – INTERTEST

Voor de bepaling van de intertestprestatie werden acht menselijke fecale monsters geanalyseerd door de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-test. De monsters omvatten 2 negatieve monsters, 2 uiterst negatieve monsters, 2 laag positieve monsters en 2 matig positieve monsters. 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 320 pathogene zymodemen (PZs)/mL voor *E. histolytica* (equivalent aan 15 PZ's gedetecteerd per test). Voor monsters in Protocol™ Cary Blair media, werd de detectiegrens vastgesteld op 275 PZs/mL voor *E. histolytica* (equivalent aan 14 PZ's gedetecteerd per test). Voor monsters in Para-Pak® C&S media, werd de detectiegrens vastgesteld op 245 PZs/mL voor *E. histolytica* (equivalent aan 12 PZ's gedetecteerd per test).

VERSE T.O.V. BEVROREN MONSTERS

Het effect van de langdurige opslag van bevroren monsters werd beoordeeld op antigeenstabiliteit. Voor de analyse werden in totaal 15 fecale monsters getest met de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-test. De fecale monsters bestonden uit 3 negatieve fecale monsters, 3 *E. histolytica* uiterst negatieve fecale monsters, 3 *E. histolytica* laag positief fecale monsters, 3 *E. histolytica* matig positieve fecale monsters en 3 *E. histolytica* hoog positieve fecale monsters. Monsters werden voorbereid en opgeslagen ≤ -10 °C op 0, 1 en 4, 8, 12, 16, 20, 24 en 28 weken. Er werd geen conversie waargenomen van positief-naar-negatief of negatief-naar-positief in een van de monsters op de gespecificeerde tijdpunten.

PROZONE

Om zeker te stellen dat een hoge concentratie van *E. histolytica* antigenen niet interfereerde met een positieve reactie in de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-test, werden hoge monsters voorbereid door een negatieve fecale pool te mengen in een concentratie die mogelijk wordt waargenomen in klinische monsters. Er werden in totaal 5 verschillende verduunningen van het antigen, inclusief de klinisch waargenomen hoge concentratie voorbereid en getest in drievoud. De resultaten toonden aan dat er geen algemene prozone-effecten waren, dat verhoogde niveaus van antigenen geen invloed hadden op de detectie van het antigen.

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.

TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUK

OBS: Amerikansk federal lovgivning begrenser alt salg av dette utstyret til leger eller på legers anmodning.

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 uøyaktig 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 én 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 arbeidskraftintensiv enn de fleste andre diagnosemetodene.

PRINSIPPET FOR TESTEN

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™-testen bruker spesifikke antistoffer for *E. histolytica*. Membranenheten 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 fortynnede prøve-konjugat-blandingens tilsettes prøvebrannen, 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 vaskbuffer, 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 membranenheten. 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 (inneholder 0,05 % ProCin® 300)*
- FORTYNNINGSMIDDEL (16 mL)** – Bufret proteinløsning med grå gradert dråpetellerenhet (inneholder 0,05 % ProCin® 300)*
- DIL | SPE**
- CONTROL+ |** **Positiv kontroll (1 mL)** – *E. histolytica*-antigen i en bufret proteinløsning (inneholder 0,05 % ProCin® 300)*
- SUBS | REAG** **Substrat (3,5 mL)** – Løsning som inneholder tetrametylbendinid
- WASH | REAG** **Vaskbuffer (12 mL)** – Bufret løsning med hvit gradert dråpetellerenhet (inneholder 0,05 % ProCin® 300)*
- * (inneholder 0,05 % ProCin® 300)
Signalord: Advarsel
H317: Kan fremkalle en allergisk reaksjon.
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P362, P363, P364, P501

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

NØDVENDIGE MATERIALER OG UTSTYR SOM IKKE MEDFØLGER

- Små prøveglass (f.eks., plastrer for mikrosentrifugen)
- Treppikatorpinner
- Engangshansker
- Pipette og spisser
- Timer

LEVETID OG OPPBEVARING

Setts 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

1. Kun på resept
2. Kun til profesjonell bruk.
3. Ved levering inspisér settet for å garantere at komponentene ikke er frose eller varme ved berøring på grunn av feil forsendelsesbetingelser, og at det ikke finnes tegn på lekkasje.
4. Bring alle komponenter til romtemperatur før bruk for å sikre riktig reaktivitet i settet.
5. Substrat-reagensen skal være fargelos. Hvis substrat-reagensen endres til en mørk blå/ fiolett farge, avhend og ring tekniske tjenester for utskifting.
6. Reagenser fra ulike sett skal ikke blandes eller veksles med hverandre. Settet må ikke brukes etter utløpsdatoen.
7. Hetter, spisser og dråpetellerenheter er fargekodet; de må IKKE blandes eller veksles med hverandre!

NO

- Bruk avføringsprøver i henhold til anbefalingene i tabellen nedenfor for å oppnå optimale resultater. Prøver som er frosne, kan miste reaktivitet på grunn av frysing og oppthining. Rå avføringsprøver som lagres nedfrys, kan tines inntil 5 ganger. Avføringsprøver i transportmedia som lagres nedfrys, kan tines en gang. Ved lagring av prøver, må ekstreme temperaturer og direkte sollys unngås.
- 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.
- Avføringsprøver og brukte 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.
- Konjugat-, fortynningsmiddel-, positiv kontroll- og vaskebuffer*-reagentene inneholder 0,05 % ProClin® 300 som konserveringsmiddel. Selv om konsentrasjonen er lav, er det kjent at ProClin® 300 er skadelig (hudsensitisering kan forekomme). Hvis det oppstår sensitisering/irritasjon eller utslett, oppsøk lege. Ta av kontaminerte klær, og vask dem før du bruker dem igjen. Hånder reagentene i henhold til eksisterende bestemmelser for laboratoriesikkerhet og god laboratoriepraksis. Sikkerhetsdataark for dette produktet fås på forespørsel. Kontakt avdelingen for teknisk støtte.
- Følg nasjonale, regionale og lokale bestemmelser for avfallshåndtering.

TAKING, HÅNDTERING OG OPPBEVARING AV AVFØRINGSPRØVER

| Akseptable prøvetyper |
|--|
| Ferske avføringsprøver |
| Frosne avføringsprøver (frosne, uførtynede) |
| Avføringsprøver i transportmedier (f.eks. Cary Blair, C&S) |

| Ikke bruk |
|---|
| Avføringsprøver i formalinbasert fiksativ (f.eks. natriumacetatformalin, 10 % formalin) |
| Avføringsprøver i alkoholbasert fiksativ (f.eks. polyvinylalkohol) |

| Oppbevaringstemperatur for prøver | Akseptabel oppbevaringslengde | Kommentarer |
|-----------------------------------|-------------------------------|---|
| Romtemperatur 18°C – 25°C | 24 timer | Ferske prøver som skal testes innen 24 timer, kan oppbevares i romtemperatur (18°C – 25°C). Dersom det ikke er planlagt å teste innen 24 timer, kjøln ned (2°C – 8°C) så snart som mulig etter taking. |
| Nedkjølt (2°C – 8°C) | 1 uke | |
| Frosne ≤ -10°C | 7 måneder | Frys og oppbevar prøvene ved ≤ -10 °C hvis testing ikke kan utføres innen 1 uke fra taking. Tin opp ved romtemperatur. Frysing og tining flere ganger kan føre til prøvetapsaktivitet på grunn av antigendegradering. |

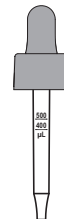
- Bruk interne standard prøvetakings- og håndteringsprosedyrer for avføringsprøver. Avføringsprøver tas i rene, lekkasjebestandige beholdere.
- Ikke oppbevar avføringsprøver i *fortynningsmidlet*.

NO

TESTPROSEDYRE

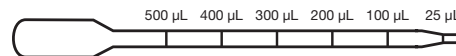
- Vær oppmerksom på den totale analysenetiden ved testing av mer enn én avføringsprøve.
- Bring alle reagensene og enhetene til romtemperatur for bruk. Fjern reagensene fra skuminnstansen for å redusere tiden som er nødvendig for å varme opp til romtemperatur.
- Sett opp og merk et lite prøveglass for hver prøve, samt alternative eksterne kontroller.
- Bruk den grå graderte dråpetellerenheten til å tilsette 500 µL med *fortynningsmiddel* (2. gradering fra spissen) til hver tube, for ferske og frosne prøver, og eksterne kontroller. For prøver i transportmedier, slik som Cary Blair eller C&S, tilsett 400 µL (1. gradering fra spissen) med *fortynningsmiddel* til røret.

| Prøvetype | Fortynningsmiddelvolum |
|---|-----------------------------------|
| Ferske avføringsprøver | 500 µL (2. gradering fra spissen) |
| Frosne avføringsprøver (frosne, uførtynede) | 500 µL (2. gradering fra spissen) |
| Prøver i transportmedier (Cary Blair, C&S) | 400 µL (1. gradering fra spissen) |
| Eksterne kontroller (positive og negative) | 500 µL (2. gradering fra spissen) |



- Tilsett én dråpe *konjugat* (flaske med rødt lokk) til hvert rør. Hold dråpetellerflaskene vertikalt for å sikre riktig dråpestørrelse. *Fortynningsmidlet* og *konjugatet* skal tilsettes til alle glassene for prøvene tilsettes.
- Ta én overføringspipette i plast for engangsbruk (følger med settet) for hver prøve.

Gradert overføringspipette:



- For flytende/halfaste prøver - bland prøven grundig. Med en overføringspipette tilsettes 25 µL av prøven i *fortynningsmiddel-/konjugat*-blandingen i glasset.
For formede/tykke prøver - bland prøven grundig ved bruk av en treappikatorpinne og overfør en liten del (omtrent 2 mm diameter, tilsvarende 25 µL) av prøven til *fortynningsmiddel-/konjugat*-blandingen. Emulger prøven ved bruk av applikatorpinne.
Avføringsprøver i Cary Blair eller C&S transportmedia - pipette 100 µL (2 dråper fra overføringspipette) av prøven inn i fortynner/konjugat-miksen.
Merk: Overføring av for lite prøve eller ufullstendig blanding og suspensivering av prøven i *fortynningsmiddel-/konjugat*-blandingen kan føre til et falskt negativt testresultat. Tilsetningen av for mye prøve kan forårsake ugyldige resultater på grunn av begrenset flyt

8. Alternative eksterne kontroller:

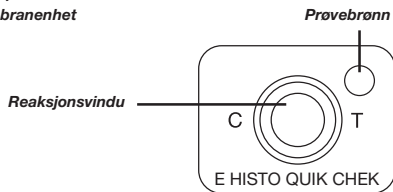
Kontrollkassetter kan kjøres samtidig med pasientprøvene.

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.

9. 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-/konjugat*-blandingen kan inkuberes ved romtemperatur opptil 2 timer før tilsetning av membranenheten.
10. 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



11. Kontroller at hver fortynnete 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 *reaksjonsvindu*et og på *viklingsputen*.
12. **Inkuber enheten ved romtemperatur i 15 minutter** – prøven vil vikles gjennom enheten, og et vått område vil spres over *reaksjonsvindu*et. Det 15-minutters inkubasjonstrinnet begynner etter at den siste fortynnete prøve-konjugatblandingen har blitt overført til den siste *membranenheten*.
MERKNAD FOR PRØVER SOM IKKE MIGRERER:
Noen ganger kan en fortynnet prøve ikke migrere riktig, og *reaksjonsvindu*et blir ikke helt vått. Hvis *reaksjonsvindu*et ikke ser ut til å være helt vått innen 5 minutter etter tilsetning av prøven til *prøvebrønnen*, tilsett 100 µL (4 dråper) *fortynningsmiddel* til *prøvebrønnen* 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 *reaksjonsvindu*et ved bruk av den hvit graderte dråpetellerenheten**. La *vaskebufferen* bli helt absorbert.
14. **Tilsett 2 dråper substrat (flaske med hvit kork) til det midtre *reaksjonsvindu*et**.
15. Incubate 10 minutes at room temperature. Read visually and record results after 10 minutes.

TOLKNING AV RESULTATER



Positivt resultat



Negativt resultat



Ugyldig resultat



Gyldig resultat

- Tolkning av testen er mest pålitelig når enheten avleses etter utløpet av den 10 minutters reaksjonsperioden. Avles enheten ved en normal arbeidsavstand i et godt belyst område. Se med en synslinje som er rett over enheten.
- Observer enheten for forekomst av en blå linje på "C"-siden av *reaksjonsvindu*et, hvilket representerer den interne positive kontrollinjen. Observer enheten for forekomst av en blå linje på "T"-siden av *reaksjonsvindu*et, hvilket representerer testlinjen. Linjene kan vises svake til mørke i intensitet.
- Positivt resultat: Et positivt resultat kan tolkes når som helst mellom tilsetningen av substrat og den 10-minutters avlesingstiden. To blå linjer er synlige, kontrollinjen ("C") og testlinjen ("T"). Linjene kan vises svake til mørke i intensitet. Forekomsten av en blå linje på "T"-siden sammen med en blå kontrollinje, tolkes som et positivt resultat. En tydelig delvis linje tolkes som et positivt resultat. Ikke tolk membranmorfologifarge eller skygge som et positivt resultat. Et positivt resultat indikerer tilstedeværelsen av *E. histolytica*.
- Negativt resultat: En test kan ikke tolkes som negativ eller ugyldig inntil 10 minutter etter tilsetning av *substrat*et. En enkel blå linje er synlig på kontroll("C")-siden av *reaksjonsvindu*et og ingen testlinje er synlig på "T"-siden av *reaksjonsvindu*et. Et negativt resultat indikerer at *E. histolytica* enten er fraværende i prøven eller at det er under påvisningsgrensen til testen.
- Ugyldig resultat: En enkel linje er synlig på "T"-siden av *reaksjonsvindu*et, eller ingen linjer er synlige i *reaksjonsvindu*et. Testresultatet er ugyldig hvis en kontrollinje ikke finnes etter at reaksjonsperioden 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 *reaksjonsvindu*et 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.

NO

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.
3. På grunn av det lave antallet positive prøver som tas under den prospektive kliniske studien, ble bruksegenskapene til *E. histolytica* også etablert med retrospektive kliniske prøver.
4. Overføring av for lite prøve eller ufullstendig blanding og suspensivering av prøven i forynningsmiddel-/konjugat-blandingen kan føre til et falskt negativt testresultat. Tilsetningen av for mye prøve kan forårsake ugyldige resultater på grunn av begrenset flyt.

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 *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 en sammensatt referansemetode (Composite Reference Method, CRM), som inkluderte molekylær påvisning av *Entamoeba histolytica*. Totalt 851 avføringsprøver ble evaluert, inkludert 96 retrospektive prøver. Opplysninger om alder var tilgjengelige for 851 pasienter. Av de 851 pasientene, var 18,9 % \leq 20 år. Opplysninger om kjønn var tilgjengelig for 851 pasienter, og 42,7 % var mannlige og 57,3 % kvinnelige. Tabell 1 og 2 viser en oppsummering av den kliniske ytelsen til *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen. Tabell 1 viser resultatene for de prospektive prøvene, av de 755 prospektivt innhentede prøvene, 100 av de prospektivt innhentede prøvene ble fornyet i Protocol™ Cary-Blair og Para-Pak® C&S. Alle prøvene som ble fornyet i transportmedier og testet var negative. Den prospektive testingen viste at *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen hadde en sensitivitet på 40,0 %, og en spesifisitet på 100 %, en prediktiv positiv verdi på 100 %, og en prediktiv negativ verdi på 99,6 % med CRM. Tabell 2 viser resultatene for de retrospektive prøvene, som viste at *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen hadde en sensitivitet og spesifisitet på 100 % med CRM.

Tabell 1. Oppsummering av prospektiv klinisk ytelse ved sammenligning av *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen og den sammensatte referansemetoden (Composite Reference Method, CRM) Prospektive prøver

| N = 755 | Composite Reference Method Positive | Composite Reference Method Negative |
|--|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positiv | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativ | 3 | 750 |

95 % konfidensgrenser

| | | |
|-------------------------|-------|-----------------|
| Sensitivitet | 40,0% | 7,3 % - 83,0 % |
| Spesifisitet | 100% | 99,4 % - 100 % |
| Prediktiv positiv verdi | 100% | 19,8% - 100 % |
| Prediktiv negativ verdi | 99,6% | 98,7 % - 99,9 % |

Alle de tre falske negative resultatene var PCR-positive og antigen-negative. Ytterligere antigenesting ble utført med en tidligere godkjent FDA-enhet.

Tabell 2. Oppsummering av retrospektiv klinisk ytelse ved sammenligning av *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen og den sammensatte referansemetoden (Composite Reference Method, CRM) Retrospektive prøver

| N = 96 | Composite Reference Method Positive | Composite Reference Method Negative |
|--|-------------------------------------|-------------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positiv | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativ | 0 | 66 |

95 % konfidensgrenser

| | | |
|--------------|------|---------------|
| Sensitivitet | 100% | 85,9% - 100 % |
| Spesifisitet | 100% | 93,1% - 100 % |

REPRODUSERBARHET

Reproduserbarheten til *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen ble bestemt ved bruk av 8 avføringsprøver som ble kodet for å forhindre identifisering i løpet av testingen. Testingen ble utført ved 2 uavhengige laboratorier og lokalt hos TECHLAB, Inc. Prøvene inkluderte 2 negative prøver, 2 høyt negative prøver, 2 lavt positive prøver og 2 moderat positive prøver. 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 tydelig til *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen.

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

Clostridium difficile
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Escherichia coli O157:H7
Escherichia coli EIEC
Escherichia coli EPEC
Escherichia coli ETEC
Klebsiella pneumoniae
Salmonella typhimurium

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

Adenovirus 2, 5, 40, 41
Coxsackievirus B5
Echovirus 11, 18, 22, 33
Enterovirus 68, 69

Human Adenovirus 1, 3
Human Coronavirus
Human Coxsackievirus B2, B3, B4
Human Echovirus 9

Human Enterovirus 69, 70, 71
Human parechovirus 1
[Echovirus 22]
Human Rotavirus

Kryssreaktiviteten med norovirus er ukjent, da den ikke ble testet i analytiske studier. Men norovirus GI/GII ble identifisert i 50 kliniske prøver ved bruk av en FDA-godkjent multipleks NAAT-analyse under klinisk testing, og ingen kryssreaktivitet ble funnet ved bruk av *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* i de prøvene.

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™-testen ble i tillegg kjørt på avføringsprøver som var dokumentert positive for andre parasitter ved mikroskopi. Tallet i parentes er antallet kliniske prøver hver organisme ble identifisert i. Ingen kryssreaktivitet ble observert med de følgende organismene.

Ascaris lumbricoides and
with eggs (21)
Blastocystis hominis (12)
Cryptosporidium spp. (30)

Entamoeba bangladeshi (3)
Entamoeba coli (13)
Entamoeba moshkovskii (3)

Giardia spp. (45)
Jodamoeba butschlii (10)
Trichuris trichiura eggs (11)

STAMMESPESIFIKT STUDIE

Spesifisiteten til *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen ble også evaluert ved å undersøke reaktiviteten til patogene (*Entamoeba histolytica*) og ikke-patogene (*Entamoeba dispar*) zymodemer (stammer) for reaktivitet av standardkurve-fortynninger. *E. histolytica*-resultatene var positive fra 244 til 30,5 patogene zymodemer (PZer)/mL og *E. dispar*-resultatene var negative ved alle fortynninger som startet på 2440 ikke-patogene zymodemer (NPZer)/mL. *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen demonstrerer riktig reaktivitet med *Entamoeba histolytica* og kryssreagerer ikke med *Entamoeba dispar*.

På grunn av morfologiske likheter, ble i tillegg 3 prøver identifisert av PCR som positive for *Entamoeba moshkovskii* og 3 positive for *Entamoeba bangladeshi* evaluert med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen. Alle disse 6 prøvene ble testet negativt på *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen.

INTERFERERENDE STOFFER (AMERIKANSK FORMEL)

De følgende stoffene hadde ingen virkning på (positive eller negative testresultater analysert ved angitte konsentrasjoner: Bariumsulfat (5 % w/v), benzalkoniumklorid (1 % w/v), ciprofloksacin (0,25 % w/v), etanol (1 % w/v), gastrisk mucin fra gris (3,5 % w/v), humant blod (40 % w/v), hydrokortison (1 % w/v), imodium® (5 % w/v), Kaopectate® (5 % w/v), leukocytter (0,05 % w/v), Maalox® Advanced (5 % w/v), mesalasin (10 % w/v), metronidazol (0,25 % w/v), mineralolie (10 % w/v), Mylanta® (4,2 mg/mL), naproxennatrium (5 % w/v), ikke-oksnyl-9 (40 % w/v), nystatin (1 % w/v), palmitinsyre/fekal ett (40 % w/v), Pepto-Bismol® (5 % w/v), fenylefrin (1 % w/v), Polyethylene glycol 3350 (10 % w/v), Prilosec OTC® (5 µg/mL), sennosid (1 % w/v), simethicon (10 % w/v), stearinsyre/fekal fett (40 % w/v), Tagamet® (5 µg/mL), TUMS (50 µg/mL), human urin (5 % w/v), og vancomycin (0,25 % w/v).

INTRA-ANALYSEPREVISJON

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. Den helhetlige korrelasjonen mellom resultatene var 100 %.

INTER-ANALYSEPREVISJON

For bestemmelse av inter-analyseprestasjon ble åtte humane avføringsprøver analysert med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen. Prøvene inkluderte 2 negative prøver, 2 høyt negative prøver, 2 lavt positive prøver og 2 moderat positive prøver. 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 320 patogene zymodemer (PZer)/mL for *E. histolytica* (ekvivalent til 15 PZer detektert per test). For prøver i Protocol™ Cary Blair-medier, ble LoD etablert ved 275 PZer/mL for *E. histolytica* (ekvivalent til 14 PZer detektert per test). For prøver i Para-Pak® C&S-medier, ble LoD etablert ved 245 PZer/mL for *E. histolytica* (ekvivalent til 12 PZer detektert per test).

NO

FERSKE VERSUS FROSNE PRØVER

Effekten av lang tids fryselagring av prøver på antigenstabilitet ble evaluert. Til analysen, ble totalt 15 avføringsprøver testet med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen. Avføringsprøvene besto av 3 negative avføringsprøver, 3 *E. histolytica* høyt negative avføringsprøver, 3 *E. histolytica* lavt positive avføringsprøver, 3 *E. histolytica* moderat positive avføringsprøver, og 3 *E. histolytica* høyt positive avføringsprøver. Prøvene ble forberedt og lagret $\leq -10^{\circ}\text{C}$ ved 0, 1, og 4, 8, 12, 16, 20, 24 og 28 uker. Ingen konvertering av positiv-til-negativ eller negativ-til-positiv ble observert i noen av prøvene på de angitte tidspunktene.

PROZONE

For å sikre at en høy konsentrasjon av *E. histolytica*-antigen ikke forstyrrer en positiv reaksjon i *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testen, ble høye prøver forberedt ved å sette en negativ avføringsmengde til en konsentrasjon som er mulig å observere i kliniske prøver. Totalt 5 ulike fortyndinger av antigenet, inntil og inkludert den klinisk observerte høye konsentrasjonen, ble forberedt og testet i triplikater. Resultatene viste at det ikke var noen helhetlig prozone-effekt, og at forhøyede antigenivåer ikke påvirket deteksjonen av antigenet.

For Informational Use Only

TECHLAB® E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

AVSEDD ANVÄNDNING

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

FÖR IN VITRO-DIAGNOSTISKT BRUK

Varning: Federala lagar i USA begränsar denna enhet till försäljning av eller på ordination av läkare

FÖRKLARING

Entamoeba histolytica och *Entamoeba dispar* är tarmparasiter som infekterar cirka en halv miljard människor runt om i världen varje år (1). Det är viktigt att skilja på de två arterna eftersom *E. histolytica* är patogen 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 objektsglas, 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, ger den extra fördelen med att endast identifiera *E. histolytica*-infektioner. 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 pepparrotsoxidaser (HRP). Konjugatet består av antikroppar mot *E. histolytica* kopplade till pepparrotsoxidaser (HRP). För att utföra testet tillsätts provet till ett rör som innehåller en blandning av *spädningsmedel* och *konjugat*. Den utspädda provkonjugatblandningen tillsätts till *provbrunnen* och anordningen tillåts inkuberas till rumstemperatur i 15 minuter. Under inkubationen binds något *E. histolytica*-adhesin i provet till antikroppsoxidaskonjugatet. Antigen-antikroppsoxidaskonjugatet förflyttas genom en filterdyra 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, kontrollerar/bekräftar 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

Membranordningar – varje påse innehåller 1 anordning

CONJ ENZ

Konjugat (2 ml) – antikroppar specifika för *E. histolytica* kopplade till pepparrotsoxidaser i en buffrad proteinlösning (innehåller 0,05 % ProClin® 300)*

DIL SPE

Spädningsmedel (16 ml) – buffrad proteinlösning med grå graderade pipetter (innehåller 0,05 % ProClin® 300)*

CONTROL+

Positiv kontroll (1 ml) – *E. histolytica* -antigen i en buffrad proteinlösning (innehåller 0,05 % ProClin® 300)*

SUBS REAG

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

WASH REAG

Tvättbuffert (12 ml) – buffrad proteinlösning med vita graderade pipetter (innehåller 0,05 % ProClin® 300)*



*(innehåller 0,05 % ProClin® 300)

Signalord: Varning

H317: Kan orsaka en allergisk hudreaktion

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

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

MATERIAL OCH UTRUSTNING SOM BEHÖVS MEN SOM INTE MEDFÖLJER PRODUKTEN

- Små provrör (t.ex. mikrocentrifugrör av plast)
- Träapplikatorpinnar
- 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. Endast Rx – receptbelagd.
2. Endast för yrkesmässig användning.
3. Granska setet vid leverans för att säkerställa att komponenterna inte är frysta eller varma, när man vidrör dem, på grund av felaktiga fraktförhållanden, samt att det inte finns några tecken på läckage.
4. Ta fram alla komponenter i rumstemperatur före användning för att säkerställa riktig reaktivitet av setet.
5. *Substrat*-reagenset ska vara färglöst. Om *substrat*-reagenset ändras till en mörkblå/mörkila färg, kassera det och ring teknisk service för utbyte.
6. Reagenser från olika set får inte blandas eller bytas ut. Använd inte ett set efter passerat utgångsdatum.

SV

- Korkar, spetsar och pipetter är färgkodade och ska INTE blandas eller bytas ut!
- Använd faecesprover enligt rekommendationerna i tabellen nedan för att uppnå optimala resultat. Prover som är frysta kan förlora reaktivitet på grund av nedfrysning och upptinande. Obehandlade faecesprover som förvaras frysta kan upptinas upp till 5 gånger. Faecesprover i transportmedia som förvaras frysta kan tinas upp en gång. Undvik extrema temperaturer och skydda proverna från direkt solljus vid förvaring.
- 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.
- Reagenserna *konjugat*, *spädningsmedel*, *positiv kontroll* och *tvättbuffert* innehåller 0,05 % ProClin® 300 som ett konserveringsmedel. Även om koncentrationen är låg är ProClin® 300 känd för att vara skadligt (hudsensibilisering kan uppstå). Om hudsensibilisering/-irritation eller hudutslag uppstår, kontakta medicinsk rådgivning/upsök sjukvård. Tag av kontaminerade kläder och tvätta dem innan de används igen. Hantera reagenser enligt gällande föreskrifter för laboratoriesäkerhet och god laboratoriesed. Säkerhetsdatablad för denna produkt finns tillgängliga på begäran. Kontakta teknisk support.
- Följ således nationella, regionala och lokala föreskrifter för regler för kassering av avfall.

INSAMLING, HANTERING OCH FÖRVARING AV FAECESPROVER

| Tillåtna typer av prover |
|---|
| Färska faecesprover |
| Frysta faecesprover (frysta outspädda) |
| Faecesprover i transportmedia (t.ex. Cary Blair, C&S) |

| Använd inte |
|--|
| Faecesprover i formalinbaserat fixeringsmedel (t.ex. natriumacetatformalin, 10 % formalin) |
| Faecesprover i alkoholbaserat fixeringsmedel (t.ex. polyvinylalkohol) |

| Provförvaringstemperatur | Tillåten förvaringslängd | Kommentarer |
|------------------------------|--------------------------|---|
| Rumstemperatur (18 °C–25 °C) | 24 timmar | Färska prover som ska testas inom 24 timmar kan vara kvar i rumstemperatur (18 °C–25 °C). Frys in proverna om de inte planeras att testas inom < 24 timmar (2 °C–8 °C) så snart som möjligt efter insamlande. |
| Fryst (2 °C–8 °C) | 1 vecka | |
| Fryst ≤ -10 °C | 7 månader | Frys proverna och förvara dem vid ≤ -10 °C om de inte kan undersökas inom 1 vecka efter insamlande. Tina upp i rumstemperatur. Nedfrysning och upptinande flera gånger kan resultera i förlorad provaktivitet på grund av antigennedbrytning. |

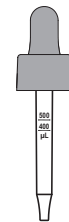
SV

- Använd de standardprocedurer som används på laboratoriet för insamlande och hantering av faecesprover. Samla in faecesprover i rena, täta behållare.
- Faecesprover får inte förvaras i *spädningsmedlet*.

TESTPROCEDUR

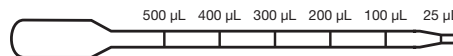
- Var uppmärksam på den totala analys tiden vid test av fler än ett faecesprov.
- Ta fram alla reagenser och anordningar i rumstemperatur före användning. Ta ut reagenserna ur insatsen av skumplast för att sänka tiden för uppvärmning till rumstemperatur.
- Ställ upp ett litet provrör och sätt på en etikett för varje prov och valfri extern kontroll.
- Använd de grå graderade pipetterna, tillsätt 500 µl *spädningsmedel* (2:a graderingen från spetsen) till varje rör för färska och frysta prover och externa kontroller. För prover i transportmedia, t.ex. Cary Blair eller C&S ska 400 µl (1:a graderingen från spetsen) *spädningsmedel* tillsättas i röret.

| Provtyp | Mängd spädningsmedel |
|---|---------------------------------------|
| Färska faecesprover | 500 µl (2:a graderingen från spetsen) |
| Frysta faecesprover (frysta outspädda) | 500 µl (2:a graderingen från spetsen) |
| Prover i transportmedia (Cary Blair, C&S) | 400 µl (1:a graderingen från spetsen) |
| Externa kontroller (positiv och negativ) | 500 µl (2:a graderingen från spetsen) |



- Tillsätt en droppe *konjugat* (flaska med röd kork) till varje rör. Håll pipetten vertikalt för att säkerställa rätt droppstorlek. *Spädningsmedlet* och *konjugatet* ska tillsättas i alla rör innan proverna 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 blandningen med *spädningsmedel/konjugat* i röret.
Formade/fasta prover - blanda provet noga med en träapplikatorpinne och överför en liten portion (cirka 2 mm i diameter), **Faecesprover i Cary Blair eller C&S transportmedia** - pipettera 100 µl (2 droppar från överföringspipetten) av provet till *spädnings-/konjugatblandningen*.
Obs! Överförande av ett för litet prov eller underlåtenhet att blanda och helt vänta med provet i blandningen med *spädningsmedel/konjugat*, kan resultera i ett falskt negativt resultat. Tillsats av för mycket prov kan leda till oögliga resultat på grund av begränsat flöde.

8. Valfria externa kontroller:

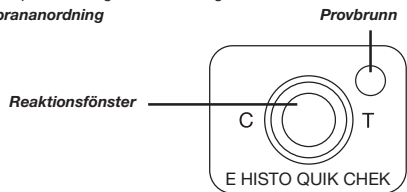
Tillvalet kontrollkassetter kan köras samtidigt som patientprover.

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.

9. För alla test och kontrollprov, förslut rören och blanda noga med användning av en vortexblandare eller genom att vända röret upp och ner flera gånger. Prov eller kontroller som späts ut i blandningen med *spädnings-/konjugat* kan inkuberas till rumstemperatur i upp till 2 timmar innan det ska tillsättas till *membrananordningen*.
10. Öppna en påse med rumstempererad *membrananordning* 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 *provrullen* är på anordningens översta högra hörn.

Membrananordning



11. 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 hål på anordningens översta högra hörn) av en *membrananordning*. Vid tillsats av provet till *provrullen*, säkerställ att överföringspipettens spets är inuti *provrullens* hål och vinklad mot *reaktionsfönstret* och *spädningsdynan*.
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) spädningsmedel till provbrunnen och vänta ytterligare 5 minuter (totalt 20 minuter). Fortsätt med nästa steg av testproceduren.*
13. **Tillsätt, efter inkubationen, 300 µl tvättbuffert till det mittersta reaktionsfönstret med hjälp av de graderade vita pipetterna.** 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 10 minuter.

TOLKNING AV RESULTAT



Positivt resultat



Negativt resultat



Ogiltigt resultat



Ogiltigt resultat

- Tolkningen av testet är pålitligt när anordningen avläses när reaktionsperioden på 10 minuter har gått. Läs av anordningen på normalt arbetsavstånd i ett väl upplyst område. Titta med en synlinje rakt ovanför anordningen.
- Granska anordningen för tecken på en blå linje på *reaktionsfönstrets* "C"-sida som motsvarar den interna positiva kontrollinjen. Granska anordningen för tecken på en blå linje på *reaktionsfönstrets* "T"-sida som motsvarar testlinjen. Linjerna kan vara bleka till mörka i intensitet.
- Positivt resultat: Ett positivt resultat kan tolkas när som helst mellan tillsatsen av substrat och avläsningstidpunkten efter 10 minuter. Två blå linjer syns, kontrollinjen ("C") och testlinjen ("T"). Linjerna kan vara bleka till mörka i intensitet. Om en blå linje syns på "T"-sidan tillsammans med en blå kontrollinje tolkas det som ett positivt resultat. En tydlig halv linje tolkas som ett positivt resultat. Tolk inte en missfärgning av eller skugga på membranet som ett positivt resultat. Ett positivt resultat indikerar förekomsten av *E. histolytica*.
- Negativt resultat: Ett test kan inte tolkas som negativt eller ogiltigt förrän 10 minuter efter tillsatsen av substrat. En enda blå linje är synlig på *reaktionsfönstrets* *kontrollside* ("C") och *ingen testlinje syns på reaktionsfönstrets* "T"-sida. Ett negativt resultat indikerar antingen frånvaro av *E. histolytica* i provet eller att det ligger under spårbarhetsgränsen för testet.
- Ogiltigt resultat: En linje är synlig på *reaktionsfönstrets* "T"-testside eller så syns inga linjer i *reaktionsfönstret*. Testresultatet är ogiltigt om det inte finns någon kontrollinje när reaktionsperioden är avslutad.

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 utvecklets 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.

BEGRÄNSNINGAR

1. Ett negativt resultat utesluter inte möjligheten till förekomst av *E. histolytica*-adhesin i provet, vilket kan förekomma om antigennivån ligger under spårbarhetsgränsen för testet.
2. *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet är kvalitativt. Färgintensiteten ska inte tolkas kvantitativt.
3. På grund av att antalet positiva prover som samlades in under den prospektiva kliniska studien var litet, fastställdes prestandaegenskaperna för *E. histolytica* med retrospektiva kliniska prover.
4. Överförande av ett för litet prov eller underlätenhet att blanda och helt vänta med provet i blandningen med *spädningsmedel/konjugat*, kan resultera i ett falskt negativt resultat. Tillsats av för mycket prov kan leda till ogiltiga resultat på grund av begränsat flöde.

FÖRVÄNTADE VÄRDEN

Normala friska personer bör inte infekteras med *E. histolytica* och bör testas negativt i *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet. 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 geografiska regioner. Det beräknas att *Entamoeba histolytica* infekterar cirka 50 miljoner människor runt om i världen (2). Ungefär 90 % av dessa personer förblir asymtomatiska 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 asymtomatiska bärare av *E. histolytica*.

PRESTANDAEGENSKAPER

Prestandan för *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet jämfördes med en sammansatt referensmetod, som omfattade molekylär spårbarhet av *Entamoeba histolytica*. Totalt 851 fecesprover utvärderades och omfattade 96 retrospektiva prover. Information gällande ålder fanns tillgänglig för 851 patienter. Av de 851 patienterna, var 18,9 % ≤ 20 år. Information gällande kön fanns för 851 patienter, och 42,7 % var män och 57,3 % var kvinnor. Tabell 1 och 2 visar en sammanfattning av *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testets kliniska prestanda. Tabell 1 visar resultaten för de prospektiva proverna. Av de 755 prospektivt insamlade proverna spåddes 100 av de prospektivt insamlade proverna ut i Protocol™ Cary-Blair och Para-Pak® C&S. Alla proverna utspädda i transportmedia testades negativt. Den prospektiva testningen visade att *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet uppvisade en känslighet på 40,0 %, med en specificitet på 100 %, ett förutspått positivt värde på 100 % och ett förutspått negativt värde på 99,6 % med den sammansatta referensmetoden. Tabell 2 visar resultaten för de retrospektiva proverna, som visade att *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet uppvisade en känslighet och specificitet på 100 % med den sammansatta referensmetoden.

Tabell 1. Sammanfattning av prospektiv klinisk prestanda vid jämförelse av *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet med de prospektiva proverna med den sammansatta referensmetoden

| N = 755 | Sammansatt referensmetod, positiv | Sammansatt referensmetod, negativ |
|--|-----------------------------------|-----------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positiv | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativ | 3 | 750 |

95 %
tillförlitlighetsgränser

| | | |
|---------------------------|--------|---------------|
| Känslighet | 40,0 % | 7,3 %–83,0 % |
| Specificitet | 100 % | 99,4 %–100 % |
| Förutspått positivt värde | 100 % | 19,8 %–100 % |
| Förutspått negativt värde | 99,6 % | 98,7 %–99,9 % |

Alla de tre falskt negativa resultaten var PCR-positiva och antigennegativa. Ytterligare antigenestning utfördes med en tidigare tömd FDA-enhet.

Tabell 2. Sammanfattning av retrospektiv klinisk prestanda vid jämförelse av *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet med de retrospektiva proverna med den sammansatta referensmetoden

| N = 96 | Sammansatt referensmetod, positiv | Sammansatt referensmetod, negativ |
|--|-----------------------------------|-----------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positiv | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativ | 0 | 66 |

95 %
tillförlitlighetsgränser

| | | |
|--------------|-------|--------------|
| Känslighet | 100 % | 85,9 %–100 % |
| Specificitet | 100 % | 93,1 %–100 % |

REPRODUCERBARHET

Reproducerbarheten för *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet fastställdes med 8 fecesprover som kodades för att förhindra identifiering under testet. Tester utfördes på 2 oberoende laboratorier och på plats i TECHLAB, Inc. Proverna omfattade 2 negativa prover, 2 starkt negativa prover, 2 svagt positiva prover och 2 måttligt positiva prover. Proverna testades trefaldigt två gånger per dag under en 5-dagars-period av flera tekniker på varje ställe med användning av 2 olika set med batcher. 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 störa *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> O157:H7 | <i>Staphylococcus aureus</i> |
| <i>Campylobacter coli</i> | <i>Escherichia coli</i> EIEC | <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> ETEC | <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 | Humant parechovirus 1 |
| Echovirus 11, 18, 22, 33 | Humant coxsackievirus B2, B3, B4 | [Echovirus 22] |
| Enterovirus 68, 69 | Humant echovirus 9 | Humant rotavirus |

Korsreaktivitet med norovirus är inte känd eftersom det inte testats i analytiska studier. Norovirus GI/GII identifierades emellertid i 50 kliniska prover med hjälp en tömd FDA multiplex NAAT-analys under klinisk testning och ingen korsreaktivitet upptäcktes med hjälp av *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* i dessa prover.

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™-testet kördes dessutom på faecesprover som var dokumenterade att vara positiva för andra parasiter med mikroskopi. Siffran inom parentes är nummer för kliniska prover där varje organism identifierades. Ingen korsreaktivitet påvisades med följande organismer.

| | | |
|--|----------------------------------|-------------------------------------|
| <i>Ascaris lumbricoides</i> och med ägg (21) | <i>Entamoeba bangladeshi</i> (3) | <i>Giardia</i> spp. (45) |
| <i>Blastocystis hominis</i> (12) | <i>Entamoeba coli</i> (13) | <i>Iodamoeba bütschlii</i> (10) |
| <i>Cryptosporidium</i> spp. (30) | <i>Entamoeba moshkovskii</i> (3) | <i>Trichuris trichiura</i> ägg (11) |

STAMSPECIFIK STUDIE

Specificiteten för *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet utvärderades också genom undersökning av reaktiviteten på patogena (*Entamoeba histolytica*) och icke-patogena (*Entamoeba dispar*) zymodemer (stammar) för reaktivitet med spändingsstandardkurvor. *E. histolytica*-resultaten var positiva från 244 till 30,5 patogena zymodemer (PZs)/ml och *E. dispar*-resultaten var negativa vid alla spändingar som började vid 2 440 icke-patogena zymodemer (NPZs)/ml. *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet uppvisar korrekt reaktivitet med *Entamoeba histolytica* och korsreagerar inte med *Entamoeba dispar*.

På grund av den morfologiska likheten identifierades dessutom 3 prover med PCR som positiva för *Entamoeba moshkovskii* och 3 positiva för *Entamoeba bangladeshi* utvärderades med hjälp av *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet. Dessa 6 prover testades alla negativa i *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet.

STÖRANDE ÄMNER (USA-FORMULERING)

Följande ämnen hade ingen effekt på positiva eller negativa testresultat som analyserats vid koncentrationer som anges: Bariumsulfat (5 vikt/vol), bensalkonklorid (1 % vikt/vol), ciprofloxacin (0,25 % vikt/vol), etanol (1 % vikt/vol), gastriskt mucin från svin (3,5 % vikt/vol), humanblod (40 % vol/vol),

hydrokortison (1 % vikt/vol), Imodium® (5 % vol/vol), Kaopektat® (5 % vol/vol), leukocyter (0,05 % vikt/vol), Maalox® avancerad (5 % vol/vol), mesalazin (10 % vikt/vol), metronidazol (0,25 % vikt/vol), mineralolja (10 % vikt/vol), Mylanta® (4,2 mg/ml), naproxennatrium (5 % vikt/vol), nonoxynol-9 (40 % vikt/vol), nystatin (10 % vikt/vol), palmitinsyra/fekalt fett (40 % vikt/vol), Pepto-Bismol® (5 % vol/vol), fenylefrin (1 % vikt/vol), polyetylen glykol 3 350 (10 % vikt/vol), Prilosec OTC® (5 µg/ml), sennosider (1 % vikt/vol), simetikon (10 % vikt/vol), stearinsyra/fekalt fett (40 % vikt/vol), Tagamet® (5 µg/ml), TUMS (50 µg/ml), humanurin (5 % vol/vol) och vankomycin (0,25 % vikt/vol).

PRECISION – INTERNANALYS

För fastställande av internanalysprestanda 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 batcher av set. En positiv och negativ kontroll kördes med varje fält. Alla positiva prov förblev positiva och alla negativa prov förblev negativa. Det totala sambandet mellan resultaten var 100 %.

PRECISION – INTERANALYS

För fastställande av interanalysprestanda analyserades åtta mänskliga faecesprover med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet. Proverna omfattade 2 negativa prover, 2 starkt negativa prover, 2 svagt positiva prover och 2 måttligt positiva prover. Proverna testades 2 gånger per dag av flera tekniker under en 12-dagarsperiod med användning av 2 olika batcher 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 320 patogena zymodemer (PZs)/ml för *E. histolytica* (motsvarande 15 PZs påvisade per test). För proverna i Protocol™ Cary Blair-mediet fastställdes spårbarheten vid 275 PZs/ml för *E. histolytica* (motsvarande 14 PZs påvisade per test). För proverna i Para-Pak® C&S-mediet fastställdes spårbarheten vid 245 PZs/ml för *E. histolytica* (motsvarande 12 PZs påvisade per test).

FÄRSKA KONTRA FRYSTA PROVER

Effekten på långtidsförvaring av frysta prover på antigenstabilitet utvärderades. För analysen testades totalt 15 faecesprover med *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet. Faecesproverna bestod av 3 negativa faecesprover, 3 *E. histolytica* starkt negativa faecesprover, 3 *E. histolytica* svagt positiva faecesprover, 3 *E. histolytica* måttligt positiva faecesprover och 3 *E. histolytica* starkt negativa faecesprover. Prover preparerades och förvarades i ≤ -10 °C i 0, 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24 och 28 veckor. Ingen omvandling av positiv-till-negativ eller negativ-till-positiv observerades i något av proverna vid de angivna tidpunkterna.

PROZON

För att säkerställa att en hög koncentration av *E. histolytica*-antigen inte påverkar en positiv reaktion i *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*-testet, preparerades starka prover genom att öka en negativ faecespool vid en koncentration som eventuellt observerades i kliniska prover. Totalt 5 olika spändingar av antigenet, upp till och inklusive den kliniskt observerade höga koncentrationen, preparerades och testades tre gånger. Resultaten visade att det inte fanns någon total prozonpåverkan, att förhöjda nivåer av antigen inte påverkade spårbarheten av antigenet.

TECHLAB® E. HISTOlyTICA QUIK CHEK™

KULLANIM AMACI

TECHLAB® E. HISTOlyTICA QUIK CHEK™ tek kullanımlık kutuda bulunan *Entamoeba histolytica* ile adezini hızlı bir membran enzimi bağımsızlığı testidir. Kullanım amacı, diyare veya dizanteri hastalarından alınan insan dışkı örneklerinde *E. histolytica* gastrointestinal enfeksiyon tanısında yardımcı sağlamaktır. Test sonuçları, hastanın hikayesi ile birlikte göz önünde tutulmalıdır.

İN VITRO TANISAL KULLANIM İÇİN

Dikkat: ABD Federal Kanunları gereği, bu cihaz yalnızca bir doktor tarafından veya doktor talimatıyla kullanılabilir.

AÇIKLAMA

Entamoeba histolytica ve *Entamoeba dispar*, her yıl dünya genelinde yaklaşık yarım milyar kişiyi etkileyen bağırsak paraziti türleridir (1). *E. histolytica* bağırsak amibiyoza (örn. diyare, dizanteri, kolit) ve bağırsak dışı amibiyoza (örn. karaciğer absesi) neden olduğundan ve patojenik nitelikte olduğundan, iki türün birbirinden ayrılması önem taşımaktadır. *E. dispar* semptomatik bir hastalık ile ilişkili değildir ve doğru teşhiste bulunulmaması gereksiz tedavi uygulanmasına neden olabilir. Amibiyoza tanısında en sık kullanılan yöntem, yaş preparasyon mikroskop incelemesidir, bu yöntemde hassasiyet ve belirlenlik 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 bağımsızlığı testi ile sağlanması, hassasiyeti daha yüksek bir alternatif tanı yöntemi sağlar (2). *E. HISTOlyTICA QUIK CHEK™* testi gibi *E. histolytica*'ya özgü bağımsızlığı 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 peroksidaz antikorları (HRP) içerir. *Konjugat* Horseradish peroksidaz ile birleşmiş *E. histolytica* antikorları içerir. Testi gerçekleştirmek için, örneğin *Seyretlici* ve *Konjugat* karışımı içeren bir tüpe konulması gerekmektedir. *Seyretilmiş örnek - konjugat karışımı Örnek Çukuru*na eklenir ve cihazın 15 dakika boyunca oda sıcaklığında enkübe olması beklenir. Enkübyasyon sırasında örnekte bulunan *E. histolytica* adezinleri antikor-proksidaz konjugatına bağlanır. Antijen-antikor-peroksidaz kompleksleri bir filtre süzgeci içerisindeki membrana doğru ilerler ve burada çizgideki immobilize anti-adezin antikorlar tarafından yakalanır. Bunun ardından, *Reaksiyon Bölmesi Yıkama Tamponu* ile yıkanır ve *Substrat* eklenir. 10 dakikalık enkübyasyon 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* düzün şekilde geçtiğini gösterir/onaylar. Aynı zamanda, test ile ilişkili diğer ayrıçaların reaktifliğini de doğrular.

TR

ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLEN MATERYALLER

MEM DEV

Membran Cihazları – her kesede 1 cihaz bulunur

CONJ ENZ

Konjugat (2 mL) – Tamponlu bir protein çözümü içinde horseradish peroksidaz ile birleşmiş olan *E. histolytica*'ya özgü antikor (%0,05 ProClin® 300 içerir)*

DIL SPE

Seyretlici (16 mL) – Gri, kademeli damlalık tertibatı bulunan tamponlu protein çözümü (%0,05 ProClin® 300 içerir)*

CONTROL+

Pozitif Kontrol (1 mL) – Tamponlu protein çözümü içerisinde *E. histolytica* antijeni (%0,05 ProClin® 300 içerir)*

SUBS REAG

Substrat (3,5 mL) – Tetrametilbenzidin içeren çözümü

WASH REAG

Yıkama Tamponu (12 mL) – Beyaz, kademeli damlalık tertibatı bulunan tamponlu protein çözümü (%0,05 ProClin® 300 içerir)*



*(%0,05 ProClin® 300 içerir)

İşaret Sözcüğü: Uyarı

H317: Alerjik deri reaksiyonuna sebep olabilir

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

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

GEREKİLİ OLAN ANCAK ÜRÜNLE BİRLİKTE VERİLMEYEN MATERYAL VE EKİPMANLAR

- Küçük test tüpleri (örn. plastik mikrosantrifüj tüpleri)
- Aşşap Uygulama Çubukları
- Tek kullanımlık eldivenler
- Pipet cihazı ve uçları
- 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 buzdolubuna iletin.

ÖNLEMLER

1. Yalnızca Rx – Yalnızca Reçete ile Satılır
2. Yalnızca profesyonel kullanım içindir.
3. Teslim alındığında, kiti kontrol ederek bileşenlerin uygunsuz nakliye koşulları nedeniyle donmuş ya da ısınmış olup olmadığından ve sızıntı emaresi olmadığından emin olun.
4. Kit reaktivitesinin uygunluğunu sağlamak için kullanım öncesinde tüm bileşenleri oda sıcaklığına getirin.
5. *Substrat* ayrıci renksiz olmalıdır. *Substrat* ayrıci koyu mavi/mor bir renk alırsa, atın ve değiştirilmesi için Teknik Servisi arayın.
6. Farklı kriterin ayrıçaları karıştırılmamalı ya da dönüşümlü olarak kullanılmamalıdır. Son kullanım tarihi geçmiş kriterli kullanmayın.
7. Kapaklar, uçlar ve damlalık tertibatları renklerle işaretlenmiştir, bunları KARIŞTIRMAYIN ya da birbirinin yerine KULLANMAYIN!

- En iyi sonuçları elde etmek için aşağıdaki tabloda önerilen nitelikte dışkı örneklerini kullanın. Donmuş örnekler, donma ve çözünme nedeniyle reaktifliğini kaybedebilir. Dondurulmuş olarak saklanan ham dışkı örnekleri, en fazla 5 defa çözdürülebilir. Nakliye aracı içerisinde tutulan dondurulmuş dışkı örnekleri bir seferde çözünebilir. Örnekleri saklarken aşırı sıcaklıklardan kaçının ve örnekleri doğrudan güneş ışığına maruz bırakmayın.
- 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.
- Konjugat, Seyreltilmiş, Pozitif Kontrol ve Yoklama Tamponu* ayırıcılarında koruyucu olarak %0,05 ProClin® 300 bulunur. Derişiminin düşük olmasına rağmen, ProClin® 300'un zararlı olduğu bilinmektedir (deride hassasiyet oluşabilir). Deride hassasiyet/tahriş ya da kızarıklık meydana gelirse tıbbi/tavsiye yardım alın. Kontamine olan elbiseleri çıkarın ve tekrar kullanmadan önce yıkayın. Ayraçlarla ilgili işlemlerde mevcut laboratuvar güvenliği yönetmeliklerine ve iyi laboratuvar uygulamalarına riayet edin. Bu ürünün Güvenlik Veri Kağıtları talep üzerine temin edilebilir; teknik desteğe başvurun.
- Atık bertaraf yönetmeliklerine dair ulusal, bölgesel ve yerel kurallara uyun.

DIŞKI ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI, İŞLEME ALINMASI VE DEPOLANMASI

| Kabul Edilebilir Örnek Türleri | Kullanılmayan |
|---|--|
| Taze Dışkı Örnekleri | Formalin bazlı fiksatif içinde tutulan dışkı örnekleri (örn. Sodyum Asetat Formalin, %10 formalin) |
| Donmuş Dışkı Örnekleri (donmuş ve seyreltilmemiş) | Alkol bazlı fiksatif içinde tutulan dışkı örnekleri (örn. polivinil alkol) |
| Nakliye aracı (örn. Cary Blair, C&S) içerisinde tutulan dışkı örnekleri | |

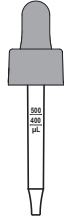
| Örnek Saklama Sıcaklığı | Kabul edilebilir saklama süresi uzunluğu | Yorumlar |
|-----------------------------|--|--|
| Oda Sıcaklığı (18°C - 25°C) | 24 saat | 24 saat içinde test edilecek olan taze örnekler oda sıcaklığında (18°C - 25°C) saklanabilir. <24 saat içinde test yapılmaya çağında, örneği toplanmasından sonraki en kısa süre içinde soğutun (2°C - 8°C). |
| Soğutulmuş (2°C - 8°C) | 1 hafta | |
| Donmuş ≤ 10°C | 7 ay | Test, örneğin toplanmasını takip eden 1 hafta içinde gerçekleştirilmeyecekse, örnekleri dondurun ve ≤ -10°C sıcaklıkta saklayın. Oda sıcaklığında çözün. Birden fazla donma ve çözünme, antijen bozunması nedeniyle örnek aktifliğinde kayıp görülmesine neden olabilir. |

- Dışkı örnekleri için standart kurum içi toplama ve işleme alma prosedürlerini kullanın. Dışkı örneklerini temiz, sızdırmaz kaplara alın.
- Dışkı örneklerini *Seyreltilmiş* içinde saklamayın.

TEST PROSEDÜRÜ

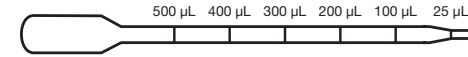
- Birden fazla dışkı örneğini test ederken toplam test süresine dikkat edin.
- Kullanım öncesinde tüm ayraçları ve cihazları oda sıcaklığına getirin. Ayraçların oda sıcaklığına gelmesi için gereken süreyi azaltmak amacıyla reaktifleri köpük koruyucudan çıkarın.
- Her bir örnek için küçük bir test tüpü ayırın ve etiketleyin, bunları isteğe bağlı harici kontrol için de gerçekleştirin.
- Gri ölçekli damlalık tertibatını kullanarak, donmuş ve taze dışkı örnekleri ve harici kontroller için her bir tüpe 500 µL (uçtan 2. ölçek) *Seyreltilmiş* ekleyin. Cary Blair ya da C&S gibi nakliye araçları içerisindeki örnekler için tüpe 400 µL (uçtan 1. ölçek) *Seyreltilmiş* ekleyin.

| Örnek Türü | <i>Seyreltilmiş</i> Hacmi |
|---|---------------------------|
| Taze Dışkı Örnekleri | 500 µL (uçtan 2. ölçek) |
| Donmuş Dışkı Örnekleri (donmuş ve seyreltilmemiş) | 500 µL (uçtan 2. ölçek) |
| Nakliye aracı içerisinde tutulan örnekler (Cary Blair, C&S) | 400 µL (uçtan 1. ölçek) |
| Harici Kontroller (pozitif ve negatif) | 500 µL (uçtan 2. ölçek) |



- Her bir tüpe bir damla *Konjugat* (kırmızı kapaklı şişe) ekleyin. Damla boyutunun uygun olmasını sağlamak için damlayıcı şişesini dik tutun. Örnekler eklenmeden önce *Seyreltilmiş* ve *Konjugatın* 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 *Seyreltilmiş/Konjugat* karışımına 25 µL örnek ekleyin.
Şekilli/Katı örnekler için - Örneği aışap bir uygulama çubuğu kullanarak iyice karıştırın ve az miktarda (yaklaşık 2 mm çaplı, 25 µL miktarda) örneği *Seyreltilmiş/Konjugat* karışımına aktarın. Uygulama çubuğunu kullanarak örneği emülsiyon haline getirin.
Cary Blair ya da C&S nakliye araçları içerisindeki dışkı örnekleri - pipet kullanarak 100 µL (aktarım pipetinden 2 damla) örneği *Seyreltilmiş/Konjugat* karışımına alın.

Not: Çok az örnek aktarılması ya da örneğin karıştırılmaması veya Seyreltici/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.

8. **İsteğe Bağlı Harici Kontroller:**

İsteğe bağlı kontrol kasetleri, hasta örnekleri ile eşzamanlı olarak çalıştırılabilir.

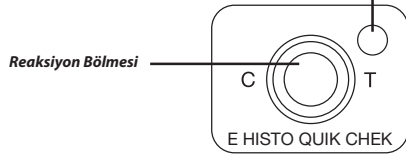
Harici Pozitif Kontrol - uygun test tüpüne bir damla **Pozitif Kontrol** (gri kapaklı şişe) ekleyin.

Harici Negatif Kontrol - uygun test tüpüne 25 µL Seyreltici ekleyin.

9. Tüm test ve kontrol örneklerinde, tüpleri kapatın ve bir vorteks karıştırıcı kullanarak ya da tüpü birkaç defa çevirerek iyice karıştırın. *Seyreltici/Konjugat* karışımında seyreltilen örnekler veya kontroller *Membran Cihazının* eklenmesinden 2 saat öncesine kadar oda sıcaklığında enkübe edilebilir.
10. 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* sağ üst köşesine gelecek şekilde tutun.

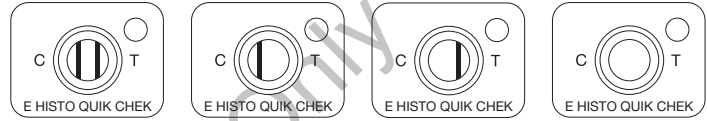
Membran Cihazı

Örnek Çukuru



11. *Membran Cihazını* eklemeyen önce seyreltilmiş her bir örneğin iyice karıştırıldığından (bkz. 9. adım) emin olun. **Yeni bir transfer pipeti kullanarak her bir tüpten 500 µL (en üst kademe) alarak bir *Membran Cihazının* *Örnek Çukuruna* aktarın** (cihazın sağ üst köşesinde bulunan küçük delik). Örneği, *Örnek Çukuruna* eklerken transfer pipetinin ucunun *Örnek Çukuru* deliği içerisinde olduğundan ve *Reaksiyon Bölmesi* ile *emme bölgesine* doğru olduğundan emin olun.
12. **Cihazı 15 dakika boyunca oda sıcaklığında enkübe edin** - örnek çahaz içinde emilecek ve *Reaksiyon Bölmesi* boyunca ıslak bir alan belirlecektir. 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 dağılımaz ve *Reaksiyon Bölmesi* tamamen ıslanmaz. *Reaksiyon Bölmesi*, örnek, *Örnek Çukuruna* eklendikten sonraki 5 dakika içerisinde tamamen ıslanmazsa, *Örnek Çukuruna* 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. 10 dakika sonra, sonuçları görsel olarak gözlemleyin ve kaydedin.

SONUÇLARIN YORUMLANMASI



Pozitif Sonuç

Negatif Sonuç

Geçersiz Sonuç

Geçersiz Sonuç

- Cihaz 10 dakikalık reaksiyon süresi bittikten sonra incelendiğinde, test en güvenilir şekilde yorumlanır. Cihazı, normal çalışma mesafesinde, iyi ışıklandırılmış bir alanda gözlemleyin. Doğrudan cihazın üzerinden bakın.
- Dahili pozitif kontrol çizgisini temsil eden şekilde *Reaksiyon Bölmesinin* "C" tarafında mavi çizgi olup olmadığına bakın. Test çizgisini temsil eden şekilde *Reaksiyon Bölmesinin* "T" tarafında mavi çizgi olup olmadığına bakın. Çizgiler yoğunluğa bağlı olarak açık veya koyu olarak görüntülenebilir.
- Pozitif Sonuç: Pozitif bir sonuç, *Substrat* eklenmesinden 10 dakikalık test değerlendirme süresinin sonuna kadarki süreçte herhangi bir noktada yorumlanabilir. İki mavi çizgi görünür olmalıdır; kontrol çizgisi ("C") ve test çizgisi ("T"). Çizgiler yoğunluğa bağlı olarak açık veya koyu olarak görüntülenebilir. Mavi bir kontrol çizgisi boyunca "T" üzerinde de mavi çizgi görünümü, pozitif sonuç olarak yorumlanır. Net bir kısmı çizgi pozitif sonuç olarak yorumlanır. Membran renk değişimini veya gölgelerini pozitif sonuç olarak yorumlamayın. Pozitif sonuç, *E. histolytica* bulunduğunu gösterir.
- Negatif Sonuç: Test, *Substrat* eklenmesinden sonraki 10 dakika öncesinde negatif ya da geçersiz olarak yorumlanamaz. *Reaksiyon Bölmesinin* kontrol "C" tarafında tek bir mavi çizgi bulunmakta ancak *Reaksiyon Bölmesinin* "T" tarafında herhangi bir test çizgisi görülmemektedir. Negatif sonuç alınması *E. histolytica*'nın bulunmadığını ya da test saptama seviyesinin altında olduğunu gösterir.
- Geçersiz Sonuç: *Reaksiyon Bölmesinin* test ("T") kısmında tek bir çizgi var ya da *Reaksiyon Bölmesinde* çizgi yok. Reaksiyon süresi tamamladığında test kontrol çizgisi yoksa test sonucu 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 Bölmesinin* "C" kısmında dikey mavi bir çizgi görülmelidir. Bu, örnek ve ayırıcıların 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 reaktifliği, teslimat sonrasında *Pozitif Kontrol* ve *negatif kontrol* (Seyreltici) kullanılarak doğrulanmalıdır. *Pozitif Kontrol* testi ile ilişkili diğer ayırıcıların reaktifliğini test eder ve analitik test geçirimi hassaslığını sağlamak üzere tasarlanmamıştır. Yerel, devlet ve/veya federal yönetmelikleri ve/veya akreditasyon kurumlarının gerekliliklerini karşılamak için ilave testler yapılabilir.

SINIRLAMALAR

1. Negatif bir test sonucu örnekte *E. histolytica* adezininin bulunma olasılığını devre dışı bırakmaz, antijen düzeyi, test algılama limitinin altında olabilir.
2. *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* testi nitel bir testtir. Rengin yoğunluğu nicel olarak yorumlanmamalıdır.
3. İleriye dönük klinik çalışmada az sayıda pozitif örnek toplandığından, *E. histolytica*'nın performans özellikleri aynı zamanda geriye dönük klinik örneklerle de test edilmiştir.
4. Çok az örnek aktarılması ya da örneğin karıştırılması veya *Seyreltilici/Konjugat* karışımında yeterli kadar bekletilmemesi, yalnızca negatif test sonucu alınmasına neden olabilir. Çok fazla örnek eklenmesi, kıstıtlı örnek akışı nedeniyle geçersiz sonuçlar alınmasına neden olabilir.

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*'nın 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™ testinin performansı, *Entamoeba histolytica*'nın moleküler tespitini içeren bir Kompozit Referans Yöntemi (CRM) ile karşılaştırılmıştır. 96'sı geriye dönük olmak üzere toplamda 851 dışkı örneği değerlendirilmiştir. 851 hasta için yaş bilgisi sunulmuştur. 851 hasta arasından %18,9'u ≤ 20 yaşındadır. 851 hasta için cinsiyet bilgisi sunulmuştur ve bu hastalardan %42,7'si erkek, %57,3'ü de kadındır. Tablo 1 ve 2'de *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* testinin klinik performansının özeti gösterilmektedir. Tablo 1'de ileriye dönük olarak toplanmış örneklerin sonuçları verilmektedir; ileriye dönük olarak toplanmış 755 örnek arasından 100'ü Protocol™ Cary-Blair ve Para-Pak™ C&S içinde seyreltilmiştir. Nakliye aracında seyreltilmiş olan ve test edilen tüm örnekler negatif sonuç vermiştir. İleriye dönük testler, *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* testinin CRM'de %100'lük bir pozitif belirleyicilik ve %99,6 negatif belirleyicilik değerinde, %100 özgüllük ile %40 oranda hassasiyette olduğunu göstermiştir. Tablo 2, *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* testinin CRM içinde %100 oranda hassasiyet ve özgüllükte olduğunu gösteren geriye dönük örneklerin sonuçlarını vermektedir.

Tablo 1. *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* testi ile Kompozit Referans Yöntem (CRM) İleriye Dönük örneklerinin karşılaştırmasını içeren ileriye dönük klinik performans özeti

| N = 755 | Kompozit Referans Yöntem Pozitif | Kompozit Referans Yöntem Negatif |
|--|----------------------------------|----------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Pozitif | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negatif | 3 | 750 |

| | | %95 Güvenilirlik Sınırı |
|-------------------------------|-------|-------------------------|
| Hassasiyet | %40,0 | %7,3 - %83,0 |
| Özgüllük | %100 | %99,4 - %100 |
| Pozitif Belirleyicilik Değeri | %100 | %19,8 - %100 |
| Negatif Belirleyicilik Değeri | %99,6 | %98,7 - %99,9 |

Üç yalnızca negatif sonuçta da PCR pozitif, antijen negatif olarak gözlemlenmiştir. Daha önceden onay verilmiş bir FDA cihazı ile ek antijen testi gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2. *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* testi ile Kompozit Referans Yöntem (CRM) Geriye Dönük örneklerinin karşılaştırmasını içeren geriye dönük klinik performans özeti

| N = 96 | Kompozit Referans Yöntem Pozitif | Kompozit Referans Yöntem Negatif |
|--|----------------------------------|----------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Pozitif | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negatif | 0 | 66 |

| | | %95 Güvenilirlik Sınırı |
|------------|------|-------------------------|
| Hassasiyet | %100 | %85,9 - %100 |
| Özgüllük | %100 | %93,1 - %100 |

TEKRARLANABİLİRLİK

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ testinin tekrarlanabilirliği, test sırasında tanımlanmamak üzere kodlanmış 8 adet dışkı örneği kullanımı içermektedir. Testler, 2 bağımsız laboratuvar ve TECHLAB, Inc. bünyesinde, sahada gerçekleştirilmiştir. Örnekler arasında 2 negatif örnek, 2 yüksek negatif örnek, 2 düşük pozitif örnek ve 2 orta pozitif örnek bulunmaktadır. Örnekler, 5 günlük bir dönemde, her bir çalışma merkezinde 2 farklı kit ile birden fazla teknisyen tarafından günde iki defa üçer kez test edilmiştir. Her bir maskelenmiş numune panelinde pozitif ve negatif kontroller çalıştırılmıştır. Her bir laboratuvarın alınan sonuçlar TECHLAB, Inc.'e gönderilmiş ve kurum içi sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Farklı konular 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.

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

Clostridium difficile
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Escherichia coli O157:H7
Escherichia coli EIEC
Escherichia coli EPEC
Escherichia coli ETEC
Klebsiella pneumoniae
Salmonella typhimurium

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

Adenovirus, 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

Analitik çalışmalarda test edilmediğinden Norovirüs ile çapraz reaksiyon durumu bilinmemektedir. Ancak klinik testler sırasında yapılan FDA onaylı çoklu NAAAT analizi kullanılarak incelenen 50 klinik örnekte Norovirüs GI/GIII tespit edilmiş ve bu örneklerde *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* kullanıldığında herhangi bir çapraz reaksiyon gözlemlenmemiştir.

Ayrıca, *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* testi, mikroskobik açıdan diğer parazitler için de pozitif sonuç vermiş dışkı örneklerinde çalışılmıştır. Parantez içinde verilen sayı, her bir organizmanın tespit edildiği klinik örnek sayısını göstermektedir. Aşağıdaki organizmalar ile herhangi bir çapraz reaksiyon tespit edilmemiştir.

Ascaris lumbricoides ve
yumurtaları (21)
Blastocystis hominis (12)
Cryptosporidium spp. (30)

Entamoeba bangladeshi (3)
Entamoeba coli (13)
Entamoeba moshkovskii (3)

Giardia spp. (45)
lodamoeba bütschlii (10)
Trichuris trichiura yumurtaları (11)

Türre Özgü Çalışma

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™ testinin özgüllüğü, standart eğri seyreltme ile reaksiyonlara karşı patojenik (*Entamoeba histolytica*) ve patojenik olmayan (*Entamoeba dispar*) zimodemlerin (türler) reaksiyonu için değerlendirilmiştir. *E. histolytica* için 244 patojenik zimodemden 30,5'i pozitifken (PZs)/mL, *E. dispar* için sonuçlar 2440 patojenik olmayan zimodemden (NPZs)/mL başlayarak tamamıyla negatiftir. *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* testi, *Entamoeba histolytica* ile uygun şekilde reaksiyona girer ve *Entamoeba dispar* ile çapraz reaksiyon oluşturmaz.

Ayrıca morfoloji benzerliği nedeniyle, PCR tarafından *Entamoeba moshkovskii* için pozitif olduğu tespit edilen 3 örnek ve *Entamoeba bangladeshi* için pozitif olduğu tespit edilen 3 örnek *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu 6 örneğin tamamı *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* testinde negatif sonuç vermiştir.

ETKİLEŞEN MADDELER (ABD FORMÜLASYONU)

Belirtilen derişimlerde analiz edildiğinde, aşağıdaki maddelerin pozitif veya negatif test sonuçları üzerinde herhangi bir etkisinin görülmediği gözlemlenmiştir: Baryum sülfat (%5 w/v), Benzalkonyum Klorür (%1 w/v), Siprofloksasin (%0,25 w/v), Etanol (%1 w/v), Domuz gastrik mütünü (%3,5 w/v), İnsan kanı (%40 w/v), Hidrokortizon (%1 w/v), Imodium® (%5 v/v), Kaopectate® (%5 v/v), Lökositler (%0,05 w/v), Maalox®, Geliştirilmiş (%5 v/v), Mesalazin (%10 w/v), Metronidazol (%0,25 w/v), Mädeni Yağ (%10 w/v), Mylanta® (4,2 mg/mL), Naproksen Sodyum (%5 w/v), Nonoksino-9 (%40 w/v), Nistatin (%1 w/v), Palmitik Asit/Dışkı Yağı (%40 w/v), Pepto-Bismol® (%5 v/v), Fenilefrin (%1 w/v), Polietilen glikol 3350 (%10 w/v), Prilosec OTC® (5 µg/mL), Sennosidler (%1 w/v), Simetikon (%10 w/v), Stearik Asit/Dışkı Yağı (%40 w/v), Tagamet® (5 µg/mL), TUMS (50 µg/mL), İnsan İdrarı (%5 v/v) ve Vankomisin® (%0,25 w/v).

HASSASLIK – TESTLER ARASI

Testler arası performansın belirlenmesi için on iki insan dışkısı 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. Sonuçlar arası genel korelasyon %100'dür.

HASSASLIK – TEST İÇİ

Test içi performansın belirlenmesi için sekiz insan dışkısı örneği *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* testi tarafından analiz edilmiştir. Örnekler, 2 negatif, 2 yüksek negatif, 2 düşük pozitif ve 2 orta pozitif örnekten oluşmaktaydı. 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* için 320 patojenik zimodem (PZs)/mL olarak belirlenmiştir (test başı 15 PZs'ye eşdeğerdir). Protocol Cary Blair aracındaki örneklerde, LoD, *E. histolytica* için 275 PZs/mL olarak belirlenmiştir (test başı 14 PZs'ye eşdeğerdir). Para-Pak® C&S aracındaki örneklerde, LoD, *E. histolytica* için 245 PZs/mL olarak belirlenmiştir (test başı 12 PZs'ye eşdeğerdir).

TAZE VE DONMUŞ ÖRNEK KARŞILAŞTIRMASI

Örneklerin donmuş halde uzun süreli olarak saklanması için antijen kararlılığı üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Analiz için *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* testi ile toplamda 15 dışkı örneği test edilmiştir. Dışkı örnekleri, 3 negatif dışkı örneği, 3 *E. histolytica* yüksek negatif dışkı örneği, 3 *E. histolytica* düşük pozitif dışkı örneği, 3 *E. histolytica* orta pozitif dışkı örneği ve 3 *E. histolytica* yüksek pozitif dışkı örneğinden oluşmaktadır. Örnekler hazırlanmış ve 0, 1, 4, 8, 12, 16, 20, 24 ve 28 haftalarda ≤ -10°C sıcaklıkta saklanmıştır. Belirtilen zamanlarda, örneklerden hiçbirinde pozitiften negatife veya negatiften pozitifte geçiş gözlemlenmemiştir.

PROZON

Yüksek *E. histolytica* antijeni konsantrasyonunun *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* testinde pozitif reaksiyonu engellemesini önlemek için, yüksek oranlı örnekler, klinik örneklerde gözlemlenebilecek konsantrasyonda negatif dışkı örneklerine ilave yapılarak hazırlanmıştır. Klinik olarak gözlemlenen yüksek konsantrasyona kadar düzeyde toplamda 5 farklı seyreltilmiş ve üçer kez test edilmiştir. Sonuçlar, genel bir prozon etkisi olmadığını, yüksek düzeyde antijenin tespitini etkilemediğini göstermiştir.

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.

PENTRU DIAGNOSTICARE IN VITRO

Atenție: Legea Federală a Statelor Unite restricționează acest dispozitiv să fie vândut de către sau la ordinul unui medic.

EXPLICAȚIE

Entamoeba histolytica și *Entamoeba dispar* sunt paraziți intestinali care infectează aproximativ o jumătate de miliard de oameni din întreaga lume în fiecare an (1). Este necesar să se facă distincția între cele două specii, deoarece E. histolytica este patogenă, provocând amebiază intestinală (de ex. diaree, dizenterie, colită) și amebioză extra-intestinală (de ex. 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 amebiozei este cea prin examinarea 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 vizual. 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 beneficiul suplimentar 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-adezivă 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 incubare de 10 minute, Fereastra de reacție este examinată vizual pentru a se depista apariția liniilor albastre verticale pe laturile „C” și „T” ale Ferestrei de reacție. O linie albastră pe latura „T” a Ferestrei de reacție indică un rezultat pozitiv. O reacție pozitivă „C”, indicată printr-o linie albastră verticală pe latura „C” a Ferestrei 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 saculeț conține 1 dispozitiv
- CONJ ENZ** Conjugat (2 ml) – anticorpi specifici pentru E. histolytica cuplați cu peroxidază din hrean într-o soluție tampon de proteine (conține 0,05% ProClin® 300)*
- DIL SPE** Diluant (16 ml) – soluție tampon cu proteine, cu pipetă gradată gri (conține 0,05% ProClin® 300)*
- CONTROL +** Control pozitiv (1 ml) – antigen E. histolytica într-o soluție tampon cu proteine (conține 0,05% ProClin® 300)*
- SUBS REAG** Substrat (3,5 ml) – soluție care conține tetrametilbenzidină
- WASH REAG** Diluant (12 ml) – soluție tampon cu proteine, cu pipetă gradată albă (conține 0,05% ProClin® 300)*



*(conține 0,05% ProClin® 300)

Cuvânt semnal: Atenție

H317: Poate cauza o reacție alergică a pielii

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

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

MATERIALE ȘI ECHIPAMENT NECESAR, ÎNSĂ NEFURNIZATE

- Eprubete mici de test (de exemplu, eprubete din plastic pentru microcentrifugă)
- Mănuși de unică folosință
- Pipetă și vârfuri
- aplicatoare din lemn
- Cronometru

DURATA DE DEPOZITARE ȘI DURATA

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.

ÖVINTÉZKEDÉSEK

1. Rx Only – Numai pe bază de prescripție medicală
2. Doar pentru uz profesional.
3. 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.
4. Aduceți toate componentele la temperatura camerei înainte de utilizare, pentru a asigura reactivitatea corectă a kitului.
5. Reactivul Substrat reagent trebuie să fie incolor. Dacă reactivul Substrat se transformă în albastru închis/violet, eliminați-l și contactați Serviciul tehnic pentru a-l înlocui.
6. Reactivii din kituri diferite nu trebuie amestecați sau interschimbați. Nu utilizați kitul după data de expirare.
7. Capacele, vârfurile și pipeta sunt codate cromatic; NU amestecați sau interschimbați!
8. Utilizați probele coprologice conform recomandărilor din tabelul de mai jos, pentru a obține rezultate optime. Probele congelate își pot pierde reactivitatea din cauza congelării și decongelării. Probele

RO

coprologice neprelucrate stocate congelate pot fi dezghețate de până la 5 ori. Probele coprologice în medii de transport stocate congelate pot fi dezghețate o singură dată. La depozitarea speciemenelor, evitați temperaturile extreme și nu le păstrați în lumina directă a soarelui.

- 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.
- Reactivii *Conjugat*, *Diluant*, *Control pozitiv* și *Soluție tampon de spălare* conțin 0,05% ProClin® 300 drept conservant. Deși concentrația este scăzută, este cunoscut că ProClin® 300 este nociv (poate duce la iritarea pielii). Dacă apar iritații sau erupții cutanate, consultați medicul. Scoateți hainele contaminate și spălați-le înainte de a le reutiliza. Manipulați reactivii conform reglementărilor existente pentru siguranță și o bună practică de laborator. Fișele de date privind siguranța pentru acest produs sunt disponibile la cerere. Contactați asistența tehnică.
- Respectați reglementările naționale, regionale și locale de aruncare a deșeurilor.

PRELEVAREA, MANEVRAREA ȘI DEPOZITAREA PROBELOR COPROLOGICE

| Tipuri de mostre acceptabile | Nu utilizați |
|--|---|
| Tipuri de mostre acceptabile | Probe coprologice în fixator pe bază de formol (de exemplu, formol acetat de sodiu, 10% formol) |
| Probe coprologice congelate (congelate nediluate) | Probe coprologice în fixator pe bază de alcool (de exemplu, alcool polivinilic) |
| Probe coprologice în medii de transport (de ex. Cary Blair, C&S) | |

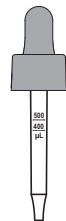
| Temperatura de stocare a probelor | Perioada acceptată de stocare | Comentarii |
|-------------------------------------|-------------------------------|--|
| Temperatura camerei (18 °C – 25 °C) | 24 ore | Probele proaspete care vor fi testate în decurs de 24 de ore pot rămâne la temperatura camerei (18 °C – 25 °C). |
| La frigider (2°C – 8°C) | 1 săptămână | În cazul în care testarea nu este planificată în <24 de ore, se lasă la frigider (2 °C – 8 °C) cât mai curând posibil după prelevare. |
| Congelate ≤ -10 °C | 7 luni | Dacă testul nu poate fi efectuat în termen de 1 săptămână de la prelevare, congelați probele și depozitați-le la o temperatură ≤ -10 °C. Dezghețare la temperatura camerei. Procedurile repetate de înghețare și decongelare pot duce la pierderea activității probelor datorită degradării antigenului. |

- Utilizați procedurile standard interne de prelevare și manevrare a probelor coprologice. Prelevați probele coprologice în recipiente curate, protejate împotriva scurgerilor.
- Nu depozitați probele coprologice în *Diluant*.

PROCEDURA DE TESTARE

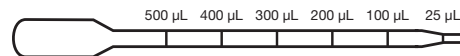
- Fiți atent la timpul total al evaluării atunci când testați mai multe probe coprologice.
- Înainte de utilizare, aduceți toți reactivii și dispozitivele la temperatura camerei. Scoateți reactivii din inserța din spumă pentru a reduce timpul necesar încălzirii la temperatura camerei.
- Pregătiți și etichetați o eprubetă mică de testare pentru fiecare probă și fiecare control extern opțional.
- Cu ajutorul pipetei gradate gri, adăugați 500 µl de *Diluant* (a 2^a gradăție de la vârful) în fiecare eprubetă pentru probele proaspete și congelate și controale externe. Pentru probele aflate în mediile de transport, cum ar fi Cary Blair sau C&S, adăugați 400 µl (prima gradăție de la vârful) de *Diluant* în eprubetă.

| Tip de probă | Volum de diluant |
|---|---|
| Probe coprologice proaspete | 500 µl (a 2 ^a gradăție de la vârful) |
| Probe coprologice congelate (congelate nediluate) | 500 µl (a 2 ^a gradăție de la vârful) |
| Probe în medii de transport (Cary Blair, C&S) | 400 µl (prima gradăție de la vârful) |
| Controale externe (positive and negative) | 500 µl (a 2 ^a gradăție de la vârful) |



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

Graduated Transfer Pipette:



- 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.
Probe coprologice din mediile de transport Cary Blair sau C&S - pipetă 100 µl (2 picături din pipeta de transfer) a mostrei în amestecul de *Diluant/Conjugat*.

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.

8. **Controla externe opționale:**

Concomitent cu probele de la pacient pot fi efectuate casete cu controale opționale.

Control extern pozitiv – adăugați o picătură de ser de **Control pozitiv** (flaconul cu capac gri) în eprubeta de testare adecvată.

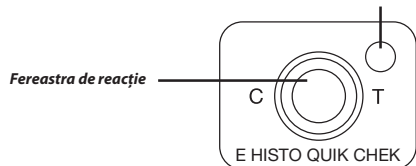
Control extern negativ – adăugați 25 μl de **Diluant** în eprubeta de testare adecvată.

9. Pentru toate probele de testare și de control, încheideți 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**.

10. Deschideți un săculeț cu **Dispozitivul 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

Baia de mostră



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 gradăție 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** și pe **fișul** absorbant.

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 Substrat (flaconul cu capac alb) în Fereastra de reacție centrală.**
15. Incubați 10 minute la temperatura camerei. Citiți vizual și înregistrați rezultatele după 10 minute.

INTERPRETAREA REZULTATELOR



Rezultat pozitiv



Rezultat negativ



Rezultat nevalid



Rezultat nevalid

- Interpretarea testului este cea mai sigură atunci când dispozitivul este citit imediat după perioada de interpretare de 10 minute. Citiți dispozitivul la o distanță normală și într-o zonă bine luminată. Citiți rezultatul privind direct deasupra dispozitivului.
- Urmăriți dispozitivul pentru apariția unei linii albastre pe latura „C” a **Ferestrei de reacție** care reprezintă o linie de control intern pozitiv. Urmăriți dispozitivul pentru apariția unei linii albastre pe partea „T” a **Ferestrei de reacție** care reprezintă linia test. Linile pot să fie de intensitate mică sau mare.
- Rezultat pozitiv:** Rezultatul pozitiv poate fi interpretat oricând între momentul adăugării soluției **Substrat** și intervalul de 10 minute de citire. Sunt vizibile două linii albastre, linia de control („C”) și linia test („T”). Linile pot să fie de intensitate mică sau mare. Apariția unei linii albastre pe latura „T” împreună cu o linie de control albastră este interpretată ca rezultat pozitiv. O linie parțială clară este interpretată ca și rezultat pozitiv. Decolorarea membranei sau apariția unei umbre nu se va interpreta ca rezultat pozitiv. Rezultatul pozitiv indică prezența *E. histolytica*.
- Rezultat negativ:** Un test nu poate fi interpretat ca și negativ sau nevalid decât după 10 minute de la adăugarea soluției **Substrat**. Este vizibilă o singură linie albastră verticală pe latura de control („C”) a **Ferestrei de reacție** și nu este vizibilă nicio linie de testare pe latura „T” a **Ferestrei de reacție**. Rezultatul negativ indică fie absența antigenului *E. histolytica* în probă, fie faptul că antigenul este sub limita de detectare a testului.
- Rezultat nevalid:** Este vizibilă o singură linie pe latura de testare („T”) a **Ferestrei de reacție** sau nu este vizibilă nicio linie pe **Fereastra de reacție**. Rezultatul testului nu este valid dacă nu este prezentă nicio linie de control după finalizarea perioadei de reacție.

CONTROLUL CALITĂȚII

Validitatea rezultatelor testului efectuat cu *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* depinde de reacția adecvată a controalelor 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. Aceasta 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 adevizinei *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.
3. Datorită numărului mic de probe pozitive colectate în timpul studiului clinic prospectiv, caracteristicile de performanță pentru *E. histolytica* au fost, de asemenea, stabilite cu probe clinice retrospective.
4. 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.

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*. Incidența infecțiilor cu *E. histolytica* variază semnificativ indicând faptul că persoana respectivă elimină cantități detectabile de antigen. 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 neapatogene (*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 o Metodă de referință compusă (CRM), care include detectarea moleculară a *Entamoeba histolytica*. Au fost evaluate în total 851 probe de fecale și au inclus 96 probe retrospective. Informațiile privitoare la vârsta au fost disponibile pentru 851 pacienți. Din 851 pacienți, 18,9% au fost cu vârsta ≤ 20 ani. Informațiile privitoare la sex au fost disponibile pentru 851 pacienți, dintre care 42,7% au fost de sex masculin și 57,3% au fost de sex feminin. În tabelele 1 și 2 sunt prezentate în rezumat datele de performanță clinică ale testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Tabelul 1 reprezintă rezultatele probelor prospective, din cele 755 de probe colectate prospectiv, 100 din probele colectate prospectiv au fost diluate în Protocolul™ Cary-Blair și Para-Pak™ C&S. Toate probele diluate în mediile de transport și testate au fost negative. Testele prospective au arătat că testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* a avut o sensibilitate de 40,0%, cu o specificitate de 100%, o valoare predictivă pozitivă de 100% și o valoare predictivă negativă de 99,6% cu CRM. Tabelul 2 reprezintă rezultatele probelor retrospective, care au arătat că testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* a avut o sensibilitate și o specificitate de 100% cu CRM

Tabelul 1. Rezumatul performanței clinice prospective care compară testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* cu probele prospective ale Metodei de referință compusă (CRM)

| N = 755 | Metodă de referință compusă pozitivă | Metodă de referință compusă negativă |
|--|--------------------------------------|--------------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Pozitiv | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativ | 3 | 750 |

95% Limite de încredere

| | | |
|-----------------------------|-------|---------------|
| Sensibilitate | 40,0% | 7,3% – 83,0% |
| Specificitate | 100% | 99,4% – 100% |
| Valoare Pozitivă Predictivă | 100% | 19,8% – 100% |
| Valoare Negativă Predictivă | 99,6% | 98,7% – 99,9% |

Toate cele trei rezultate fals negative au fost PCR pozitive și antigen negative. A fost efectuată o testare suplimentară a antigenului cu un dispozitiv FDA aprobat în prealabil.

Tabelul 2. Rezumatul performanței clinice retrospective care compară testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* cu probele retrospective ale Metodei de referință compusă (CRM)

| N = 96 | Metodă de referință compusă pozitivă | Metodă de referință compusă negativă |
|--|--------------------------------------|--------------------------------------|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Pozitiv | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativ | 0 | 66 |

95% Limite de încredere

| | | |
|---------------|------|--------------|
| Sensibilitate | 100% | 85,9% – 100% |
| Specificitate | 100% | 93,1% – 100% |

REPRODUCTIBILITATE

Reproductibilitatea testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* a fost stabilită folosind 8 probe coprologice care au fost codate pentru a preveni identificarea acestora pe parcursul testării. Testarea a fost efectuată în 2 laboratoare independente și în centrul TECHLAB, Inc. Probele au inclus 2 probe negative, 2 probe intens negative, 2 probe slab pozitive și 2 probe moderat pozitive. Probele au fost testate în triplicat, de două ori pe zi, pe parcursul unei perioade de 5 zile de mai mulți tehnicieni din fiecare centru, utilizând 2 loturi diferite de kituri. 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 bifermensans

Clostridium difficile
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Escherichia coli O157:H7
Escherichia coli EIEC
Escherichia coli EPEC
Escherichia coli ETEC
Klebsiella pneumoniae
Salmonella typhimurium

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

Adenovirus, 2, 5, 40, 41
Virus Coxsackie B5
Echovirus 11, 18, 22, 33
Enterovirus 68, 69

Adenovirus uman 1, 3
Coronavirus uman
Virus Coxsackie uman B2, B3, B4
Echovirus uman 9

Enterovirus uman 69, 70, 71
Parechovirus uman 1
[Echovirus 22]
Rotavirus uman 9

Reactivitatea încrucișată cu Norovirus este necunoscută deoarece nu a fost testată în studii analitice. Cu toate acestea, Norovirus GI/GII a fost identificat în 50 de probe clinice utilizând o analiză NAAT multiplex aprobată de FDA în timpul testelor clinice și nu a fost înregistrată nicio reactivitate încrucișată utilizând *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* în acele probe.

În plus, testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* a fost efectuat pe probe coprologice dovedite pozitive cu alți paraziți prin microscopie. Numărul din paranteză este numărul de probe clinice în care a fost identificat fiecare organism. Nu a fost întâlnită reactivitate încrucișată cu următoarele organisme.

Ascaris lumbricoides și cu ouă (21)
Blastocystis hominis (12)
Cryptosporidium spp. (30)

Entamoeba bangladeshi (3)
Entamoeba coli (13)
Entamoeba moshkovskii (3)

Giardia spp. (45)
Iodamoeba bütschlii (10)
Ouă de *Trichuris trichiura* (11)

STUDIUL CU SPECIFICITATE DE TULPINI

Specificitatea testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* a fost, de asemenea, evaluată examinând reactivitatea zimodelor (tulpinilor) patogene (*Entamoeba histolytica*) și nonpatogene (*Entamoeba dispar*) prin diluții standard. Rezultatele pentru *E. histolytica* au fost pozitive pentru 244 până la 30,5 zimodele patogene (PZs)/ml și rezultatele pentru *E. dispar* au fost negative la toate diluțiile, începând cu 2440 zimodele nepatogene (NPZs)/ml. Testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* demonstrează o activitate corespunzătoare cu *Entamoeba histolytica* și nu prezintă reactivitate încrucișată cu *Entamoeba dispar*.

În plus, datorită similarităților morfologice, 3 probe identificate prin PCR ca fiind pozitive pentru *Entamoeba moshkovskii* și 3 pozitive pentru *Entamoeba bangladeshi* au fost evaluate cu ajutorul testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Toate aceste 6 probe au avut rezultate negative în testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*.

SUBSTANȚE INTERFERENTE (FORMULARE S.U.A.)

Substanțele următoare nu au avut niciun efect asupra rezultatelor pozitive sau negative ale testelor analizate în concentrațiile indicate: Sulfat de bariu (5% g/v), Clorură de benzalconiu (1% g/v), Ciprofloxacin (0,25% g/v), Etanol (1% g/v), Mucină gastrică de porc (3,5% g/v), Sânge uman (40% v/v), Hidrocortizon (1% g/v), Imodium™

(5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Leucocite (0,05% g/v), Maalox® complex (5% v/v), Mesalazină (10% g/v), Metronidazol (0,25% g/v), Ulei mineral (10% g/v), Mylanta® (4,2 mg/ml), Naproxen Sodiu (5% w/v), Nonoxinol-9 (40% g/v), Nistatin (1% g/v), Acid palmitic/Grăsimă din fecale (40% g/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), Fenilefrină (1% g/v), Polietilen glicol 3350 (10% g/v), Prilosec OTC® (5 μg/ml), Sennosides (1% g/v), Simeticonă (10% g/v), Acid steric/Grăsimă din fecale (40% g/v), Tagamet® (5 μg/ml), TUMS (50 μg/ml), Urină umană (5% v/v) și Vancomicină (0,25% g/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 aceleiași 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. Corelarea globală dintre rezultate a fost de 100%.

PRECIZIE – INTER-TESTE

Pentru determinarea performanței inter-teste, au fost analizate opt probe coprologice umane cu ajutorul testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Probele au inclus 2 probe negative, 2 probe intens negative, 2 probe slab pozitive și 2 probe moderat pozitive. Probele au fost testate de două ori pe zi de mai mulți tehnicieni pe o perioadă de 12 zile, utilizându-se 2 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 detecție (LoD) pentru testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* a fost stabilită la 320 zimodele patogene (PZs)/ml pentru *E. histolytica* (echivalent cu 15 PZs detectate per test). Pentru probele în mediu Protocol™ Cary Blair, LoD a fost stabilită la 275 PZs/ml pentru *E. histolytica* (echivalent cu 14 PZs detectate per test). Pentru probele în mediu Para-Pak® C&S LoD a fost stabilită la 245 PZs/ml pentru *E. histolytica* (echivalent cu 12 PZs detectate per test).

PROBE PROASPETE VERSUS PROBE CONGELATE

A fost evaluat efectul stocării speciemenelor congelate pe termen lung asupra stabilității antigenului. Pentru analiză, au fost testate în total 15 probe coprologice umane cu ajutorul testului *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Probele coprologice au constat în 3 probe coprologice negative, 3 probe coprologice *E. histolytica* intens negative, 3 probe coprologice *E. histolytica* slab pozitive, 3 probe coprologice *E. histolytica* moderat pozitive și 3 probe coprologice *E. histolytica* intens pozitive. Probele au fost preparate și stocate la ≤ -10 °C timp de 0, 1 și 4, 8, 12, 16, 20, 24 și 28 săptămâni. Nu a fost observată nicio conversie pozitivă la negativă sau negativă la pozitivă pentru niciuna dintre probe, la intervalele de timp specificate.

PROZONĂ

Pentru a verifica dacă antigenul *E. histolytica* nu interferează cu o reacție pozitivă în testul *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*, au fost preparate probe concentrate prin însemnarea unui eșantion coprologic negativ la o concentrație posibil observată în probele clinice. Au fost preparate și testate în triplicat în total de 5 diluții diferite ale antigenului, până la și inclusiv concentrația ridicată observată clinic. Rezultatele au demonstrat că nu a existat o afectare generală de prozonă, că nivelul ridicat de antigen nu au afectat detectarea antigenului.

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 adesina de *Entamoeba histolytica* em cassete de utilização única. A sua utilização destina-se a amostras fecais humanas de pacientes com diarreia e disenteria como auxílio no diagnóstico de infecção gastrointestinal *E. histolytica*. Os resultados do teste devem ser considerados em conjunto com o histórico do paciente.

PARA UTILIZAÇÃO COM DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Cuidado: A Lei Federal dos EUA restringe a venda deste dispositivo apenas a médicos ou por ordem destes

EXPLICAÇÃO


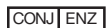
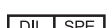

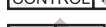

Entamoeba histolytica e *Entamoeba dispar* são parasitas intestinais que infetam aproximadamente meio milhão de milhões de pessoas em todo o mundo todos os anos (1). É necessário distinguir entre duas espécies, porque o *E. histolytica* é patogénico, causando amebíase intestinal (por ex., diarreia, disenteria, colite) e amebíase extraintestinal (por ex., abscesso do fígado). *E. dispar* não está associado a 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 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 acrescido de identificar apenas infecções por *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 adesina de *E. histolytica*. A linha de controlo ("C") contém anticorpos para peroxidase de rábano (HRP). O Conjugado consiste em anticorpos de *E. histolytica* ligados 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 adesina de *E. histolytica* 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 antiadesina 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

- | | |
|---|---|
|  | Dispositivos de membrana – Cada saqueta contém 1 dispositivo |
|  | Conjugado (2 mL) – Anticorpo específico para <i>E. histolytica</i> ligado a peroxidase de rábano numa solução de proteína tamponizada (contém 0,05% ProClin® 300)* |
|  | Diluente (16 mL) – solução de proteína tamponizada com conjunto de conta-gotas cinzento graduado (contém 0,05% ProClin® 300)* |
|  | Controlo positivo (1 mL) – antígeno <i>E. histolytica</i> numa solução de proteínas tamponizada (contém 0,05% ProClin® 300)* |
|  | Substrato (3.5 mL) – solução contendo tetrametilbenzidina |
|  | Tampão de Lavagem (12 mL) – solução de proteína tamponizada com conjunto de conta-gotas graduado (contém 0,05% ProClin® 300)* |



* (contém 0,05% ProClin® 300)
Palavra de Sinalização: Aviso
H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P363, P364, P501

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

MATERIAIS E EQUIPAMENTO NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Tubos de ensaio pequenos (por ex., tubos microcentrífugos de plástico
- Sticks de Aplicação em Madeira
- Luvas descartáveis
- Pipetador 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

1. Apenas Rx - Apenas com Prescrição
2. Apenas para uso profissional.
3. 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.
4. Coloque todos os componentes à temperatura ambiente antes de utilizar para assegurar a reatividade adequada do kit.
5. 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.
6. 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 de acordo com as recomendações da tabela abaixo para obter resultados ótimos. As amostras que são congeladas podem perder reatividade devido ao congelamento e descongelamento. Amostras fecais puras que estejam armazenadas congeladas, poderão ser descongeladas até 5 vezes. Amostras fecais em meios de transporte que estejam armazenadas congeladas, podem ser descongeladas uma vez. Ao armazenar amostras, evite temperaturas extremas e mantenha longe da exposição solar direta.
- 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.
- O *Conjugado*, *Diluyente*, *Controlo Positivo* e reagentes do *Tampão de Lavagem* contêm 0,05% ProClin® 300 como conservante. Embora a concentração seja baixa, ProClin® 300 é conhecido por ser nocivo (pode ocorrer sensibilização cutânea). Se surgir sensibilização/irritação ou erupção cutânea, procure ajuda/conselhos médicos. Retire a roupa contaminada e lave-a antes de voltar a usar. Manuseie os reagentes de acordo com os regulamentos existentes relativos à segurança laboratorial e às boas práticas laboratoriais. Estão disponíveis Fichas de Dados de Segurança relativas a este produto; contacte o apoio técnico.
- Siga os regulamentos nacionais, regionais e locais no que respeita às normas para a eliminação de resíduos.

RECOLHA, MANIPULAÇÃO E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS FCAIS

| Tipos de Amostras Aceitáveis |
|--|
| Amostras Fcais Frescas |
| Amostras Fcais Congeladas (congeladas não-diluídas) |
| Amostras fcais em meios de transporte (por ex., Cary Blair, C&S) |

| Não Utilizar |
|--|
| Amostras fcais em fixador à base de Formol (por ex., Acetato de Sódio Formol, 10 % formol) |
| Amostras fcais em fixador à base de álcool (por ex., álcool polivinílico) |

| Temperatura de Armazenamento das Amostras | Duração Aceitável do Armazenamento | Comentários |
|---|------------------------------------|--|
| Temperatura Ambiente (18 °C - 25 °C) | 24 horas | As amostras frescas testadas no espaço de 24 horas podem permanecer à temperatura ambiente (18 °C - 25 °C). Se não estiver previsto serem testadas em <24 horas, por favor refrigere (2 °C - 8 °C) logo que possível após a recolha. |
| Refrigeradas (2° C - 8° C) | 1 semana | |

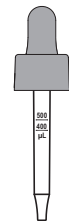
| Temperatura de Armazenamento das Amostras | Duração Aceitável do Armazenamento | Comentários |
|---|------------------------------------|--|
| Congeladas ≤ - 10 °C | 7 meses | Congele as amostras e armazene a ≤ -10 °C se não for possível executar os testes num período de 1 semana após a recolha. Descongelar à temperatura ambiente. Congelar e descongelar várias vezes pode resultar na perda de atividade da amostra devido à degradação do antígeno. |

- Utilize procedimentos de recolha e manuseamento internos padrão para amostras fcais. Recolha amostras fcais em recipientes limpos e à prova de fugas.
- Não armazene as amostras fcais no *Diluyente*.

PROCEDIMENTO DE TESTE

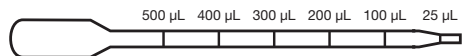
- Esteja atento ao tempo total do ensaio quando testar mais de uma amostra fecal.
- Coloque todos os reagentes e dispositivos à temperatura ambiente antes de utilizar. Recomenda-se retirar os reagentes da inserção de espuma para reduzir o tempo necessário para aquecer até à temperatura ambiente.
- Prepare e rotule um pequeno tubo de ensaio para cada amostra e os controlos externos opcionais.
- Ao utilizar um conjunto de conta-gotas cinzento graduado, adicione 500 µL de *Diluyente* (2.ª graduação a partir da ponta) a cada tubo para amostras frescas e congeladas e controlos externos. Para amostras em meio de transporte, como Cary Blair C&S, adicione 400 µL (1.ª graduação a partir da ponta) de Diluyente ao tubo.

| Tipo de Amostra | Volume de Diluyente |
|---|--|
| Amostras Fcais Frescas | 500 µL (2.ª graduação a partir da ponta) |
| Amostras Fcais Congeladas (congeladas não-diluídas) | 500 µL (2.ª graduação a partir da ponta) |
| Amostras em meios de transporte (Cary Blair, C&S) | 400 µL (1.ª graduação a partir da ponta) |
| Controlos Externos (positivo e negativo) | 500 µL (2.ª graduação a partir da ponta) |



- 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:



7. **Para Amostras Líquidas/Semissólidas** - 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.

Amostras fecais nos meios de transporte Cary Blair ou C&S - pipete 100 µL (2 gotas a partir da pipeta de transferência) de amostra para a mistura de *Diluyente/Conjugado*.

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.

8. **Controles Externos Opcionais:**

Podem ser executadas cassetes de controlo opcionais em simultâneo com as amostras do paciente.

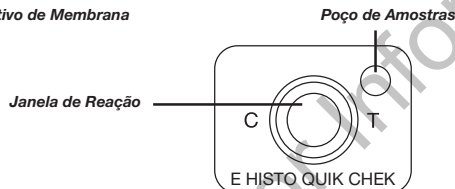
Controlo Positivo Externo - adicione uma gota de *Controlo Positivo* (frasco com tampa cinzenta) ao tubo de ensaio adequado.

Controlo Negativo Externo - adicione 25 µL de *Diluyente* ao tubo de ensaio adequado.

9. Para todas as amostras de teste e controlo, feche os tubos e misture cuidadosamente utilizando um misturador de vórtice invertendo o tubo várias vezes. 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*.

10. 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 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 e à almolhada de drenagem.
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 totalmente absorvido.
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 10 minutos.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS



Resultado Positivo



Resultado Negativo



Resultado Inválido



Resultado Inválido

1. A interpretação do teste é mais fiável quando o dispositivo é lido no final do período de reação de 10 minutos. Leia o dispositivo a uma distância de trabalho normal numa área bem iluminada. Veja com uma linha de visão diretamente sobre o dispositivo.
2. Observe o dispositivo quanto ao aparecimento de uma linha azul no lado "C" da *Janela de Reação* representando a linha de controlo positivo interno. Observe o dispositivo quanto ao aparecimento de uma linha azul no lado "T" da *Janela de Reação* representando a linha de teste. As linhas podem aparecer com uma intensidade ténue a escura.
3. Resultado Positivo: Um resultado positivo pode ser interpretado a qualquer altura entre a adição de Substrato e os 10 minutos de tempo de leitura. São visíveis duas linhas azuis, a linha de controlo ("C") e a linha de teste ("T"). As linhas podem aparecer com uma intensidade ténue a escura. O aparecimento de uma linha azul no lado "T" juntamente com a linha de controlo azul é interpretado como um resultado positivo. Uma linha parcial óbvia é interpretada como um resultado positivo. Não interprete a descoloração da membrana ou sombra como um resultado positivo. Um resultado positivo indica a presença de *E. histolytica*.

- Resultado Negativo: Um teste não pode ser interpretado como negativo ou inválido até 10 minutos após a adição de *Substrato*. Uma linha azul vertical única está visível no lado de controle ("C") da *Janela de Reação* e nenhuma linha de teste está visível no lado "T" da *Janela de Reação*. Um resultado negativo indica que *E. histolytica* está ausente da amostra ou está abaixo do limite de detecção do teste.
- Resultado Inválido: Uma linha única é visível no lado de teste ("T") da *Janela de Reação*, ou nenhuma linha é visível na *Janela de Reação*. O resultado do teste é inválido se uma linha de controle não estiver presente no final do período de reação.

CONTROLO DE QUALIDADE

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

Internos: 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.

Externos: 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

- Um resultado de teste negativo não impede a possibilidade da presença de adesina de *E. histolytica* na amostra que pode ocorrer se o nível de antígeno estiver abaixo do limite de detecção do teste.
- O teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* é qualitativo. A intensidade da cor não deve ser interpretada quantitativamente.
- Devido ao baixo número de amostras positivas recolhidas durante o estudo clínico prospetivo, foram também estabelecidas características de desempenho para o *E. histolytica* com amostras clínicas retrospectivas.
- 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.

VALORES ESPERADOS

Indivíduos saudáveis normais não devem estar infetados com *E. histolytica* e devem ter resultado negativo no teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Um resultado de 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 o *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 viajam 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 de *E. histolytica*.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

O desempenho do teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* foi comparado com um Método de Referência de Compósito (MRC), que incluiu a deteção molecular de *Entamoeba histolytica*. Avaliou-se um total de 851 amostras fecais e incluíram-se 96 amostras retrospectivas. Informação da idade disponível para 851 pacientes. Dos 851 pacientes, 18,9% tinham ≤ 20 anos. Informação do sexo disponível para 851 pacientes, e 42,7% eram homens e 57,3% eram mulheres. A tabela 1 e 2 mostram um resumo do desempenho clínico do teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. A tabela 1 representa os resultados para as amostras prospetivas, das 755 amostras prospetivas recolhidas, 100 das amostras prospetivas recolhidas foram diluídas em Protocol™ Cary-Blair e Para-Pak® C&S. Todas as amostras diluídas em meios de transporte e testadas foram negativas. O teste prospetivo revelou que o teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* mostrou uma sensibilidade de 40,0% com uma especificidade de 100%, um valor positivo previsível de 100% e, um valor negativo previsível de 99,6% com o CRM. A tabela 2 representa os resultados para as amostras retrospectivas, as quais revelaram que o teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* mostrou uma sensibilidade e especificidade de 100% com o CRM.

Tabela 1. Resumo do desempenho clínico prospetivo comparando o teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* com as Amostras Prospetivas do Método de Referência de Compósito (MRC)

| N = 755 | Método de Referência de Compósito Positivo | Método de Referência de Compósito Negativo |
|---|--|--|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positiva | 2 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativa | 3 | 750 |

| | Limites de Confiança 95 % | |
|--------------------------|---------------------------|---------------|
| Sensibilidade | 40,0% | 7,3% - 83,0% |
| Especificidade | 100% | 99,4% - 100% |
| Valor Preditivo Positivo | 100% | 19,8% - 100% |
| Valor Preditivo Negativo | 99,6% | 98,7% - 99,9% |

Os três resultados falsos negativos eram PCR positivos e antígeno negativos. Foram realizados testes de antígeno suplementares com um dispositivo previamente autorizado pela FDA.

Tabela 2. Resumo do desempenho clínico retrospectivo comparando o teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* com as Amostras Retrospectivas do Método de Referência de Compósito (MRC)

| N = 96 | Método de Referência de Compósito Positivo | Método de Referência de Compósito Negativo |
|---|--|--|
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Positiva | 30 | 0 |
| <i>E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™</i> Negativa | 0 | 66 |
| 95% Confidence Limits | | |
| Sensibilidade | 100% | 85,9% - 100% |
| Especificidade | 100% | 93,1% - 100% |

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade do teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* foi determinada utilizando 8 amostras fecais que foram codificadas para evitar a sua identificação durante o teste. Os testes foram executados em 2 laboratórios independentes e nas instalações da TECHLAB, Inc. As amostras incluíram 2 amostras negativas, 2 amostras negativas elevadas, 2 amostras positivas baixas e 2 amostras positivas moderadas. As amostras foram testadas em triplicado duas vezes por dia durante um período de 5 dias por diversos técnicos em cada local utilizando 2 lotes de kits diferentes. Um controle 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 bifermensans

Clostridium difficile
Enterococcus faecalis
Escherichia coli
Escherichia coli O157:H7
Escherichia coli EIEC
Escherichia coli EPEC
Escherichia coli ETEC
Klebsiella pneumoniae
Salmonella typhimurium

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

Adenovirus, 2, 5, 40, 41
 Vírus de Coxsackie B5
 Echovirus 11, 18, 22, 33
 Enterovirus 68, 69

Adenovirus Humano 1, 3
 Coronavírus Humanos
 Coxsackievirus Humano B2, B3, B4
 Ecovirus Humano 9

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

A reatividade cruzada com o Norovírus é desconhecida porque não foi testada em estudos analíticos. No entanto, o Norovírus GI/GII foi identificado em 50 amostras clínicas diferentes utilizando um ensaio multiplex NAAT autorizado pela FDA durante os testes clínicos e não foi encontrada qualquer reatividade cruzada utilizando o *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* nessas amostras.

Adicionalmente, o teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* foi executado em amostras fecais documentadas como positivas para outros parasitas por microscopia. O número de parenteses é o número de amostras clínicas em que cada organismo foi identificado. Não se observou qualquer reatividade cruzada nos organismos seguintes.

| | | |
|---|----------------------------------|--------------------------------------|
| <i>Ascaris lumbricoides</i> e com ovos (21) | <i>Entamoeba bangladeshi</i> (3) | <i>Giardia spp.</i> (45) |
| <i>Blastocystis hominis</i> (12) | <i>Entamoeba coli</i> (13) | <i>Iodamoeba bütschlii</i> (10) |
| <i>Cryptosporidium spp.</i> (30) | <i>Entamoeba moshkovskii</i> (3) | <i>Trichuris trichiura</i> ovos (11) |

Estudo Específico da Estirpe

A especificidade do teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* foi também avaliada através do exame da reatividade de zimodemes (estirpes) patogênicas (*Entamoeba histolytica*) e não-patogênicas (*Entamoeba dispar*) em relação a reatividade através de diluições de curva padrão. Os resultados *E. histolytica* foram positivos de 244 a 30,5 zimodemes patogênicos (PZs)/mL e os resultados *E. dispar* foram negativos em todas as diluições que começaram a 2440 zimodemes não-patogênicos (NPZs)/mL. O teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* demonstra a reatividade adequada com *Entamoeba histolytica* e não contrarreação com *Entamoeba dispar*.

Adicionalmente, devido à semelhança na morfologia, 3 amostras identificadas pela PCR como positivas para *Entamoeba moshkovskii* e 3 positivas para *Entamoeba bangladeshi* foram avaliadas utilizando o teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. Estas 6 amostras foram todas negativas no teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*.

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES (FORMULAÇÃO DOS EUA)

As substâncias seguintes não tiveram efeito nos resultados positivos ou negativos analisados nas concentrações indicadas: Sulfato de bário (5 % w/v), Cloreto de Benzalcônio (1 % w/v), Ciprofloxacina (0,25 % w/v), Etanol (1 % w/v), Mucina gástrica suína (3,5 % w/v), sangue humano (40 % v/v), hidrocortisona (1 % w/v), Imodium® (5 % v/v), Kaopectate® (5 % v/v), Leucócitos (0,05 % w/v), Maalox® Advanced (5 % v/v), Mesalazina (10 % w/v), metronidazol (0,25 % w/v), Óleo Mineral (10 % w/v), Mylanta® (4,2 mg/mL), Naproxeno Sódico (5 % w/v), Nonoxinol-9 (40 % v/v), Nistatina (1 % w/v), Ácido Palmítico/Gordura Fecal (40 % w/v), Pepto-Bismol® (5 % v/v), fenilefrina 1 % w/v, Polyethylene glycol 3350 (10 % w/v), Prolisec OTC® (5 µg/mL), Senosidas (1 % w/v), Simeticona (10 % w/v), Ácido Estearico/Gordura Fecal (40 % w/v), Tagamet® (5 µg/mL), TUMS (50 µg/mL), Urina Humana (5 % v/v) e Vancomicina (0,25 % w/v).

PRECISÃO – INTRAENSAIO

Para a determinação do desempenho intraensaio, 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. A correlação global entre os resultados foi de 100%.

PRECISÃO – INTERENSAIO

Para a determinação do desempenho interensaio, oito amostras fecais humanas foram analisadas pelo teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. As amostras incluíram 2 amostras negativas, 2 amostras negativas elevadas, 2 amostras positivas baixas e 2 amostras positivas moderadas. 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 dia. Todas as amostras positivas permaneceram positivas e as negativas permaneceram negativas.

SENSIBILIDADE ANALÍTICA

O Limite de Detecção (LD) para o teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* foi estabelecido em 320 Zimodemes patogênicos (PZs)/mL para *E. histolytica* (equivalente a 15 PZs detetados por teste). Para amostras em meios Protocol™ Cary Blair, o LD foi estabelecido em 275 PZs/mL para *E. histolytica* (equivalente a 14 PZs detetados por teste). Para amostras em meios Para-Pak® C&S, o LD foi estabelecido em 245 PZs/mL para *E. histolytica* (equivalente a 12 PZs detetados por teste).

AMOSTRAS FRESCAS VERSUS CONGELADAS

Foi avaliado o efeito do armazenamento prolongado de amostras congeladas na estabilidade do antígeno. Para a análise, um total de 15 amostras fecais foram testadas pelo teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*. As amostras fecais consistiram em 3 amostras fecais negativas, 3 amostras fecais negativas elevadas para *E. histolytica*, 3 amostras fecais positivas baixas para *E. histolytica*, 3 amostras fecais positivas moderadas para *E. histolytica*, e 3 amostras fecais positivas elevadas para *E. histolytica*. As amostras foram preparadas e armazenadas a ≤ -10 °C em 0, 1, e 4, 8, 12, 16, 20, 24 e 28 semanas. Não foi observada conversão de positiva-para-negativa ou de negativa-para-positiva em quaisquer das amostras nos pontos temporais especificados.

PROZONA

Para assegurar que uma concentração elevada do antígeno *E. histolytica* não interfere com a reação positiva no teste *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*, foram preparadas amostras elevadas aumentando um reservatório fecal negativo até uma concentração possivelmente observada em amostras clínicas. Foram preparadas e testadas em triplicado um total de 5 diluições diferentes do antígeno, até e incluindo a concentração mais elevada clinicamente observada. Os resultados demonstraram que não existiu efeito prozona global, que os níveis elevados de antígeno não afetaram a detecção do antígeno.

TECHNICAL SUPPORT

Further information can be obtained from contacting TECHLAB® Technical Support:

| | |
|-------|----------------|
| US | +1 800 TECHLAB |
| Phone | (540) 953-1664 |
| Fax | (540) 953-1665 |
| Email | ts@techlab.com |

REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA / QUELLENANGABE / RÉFÉRENCES / LITERATURA / REFERENCER / ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ / REFERENCIÁK / BIBLIOGRAFIA / REFERENTIES / HENVISNINGER / REFERENSER / 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

TEL 1-800-832-4522 USA

TEL 1-540-953-1664 Outside USA



EC REP Emergo Europe

Prinsessegracht 20

2514 AP The Hague

The Netherlands

Made in the USA

© 2021 TECHLAB, Inc. All rights reserved.

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK, the TECHLAB Logo and TECHLAB are trademarks of TECHLAB, Inc.

ProClin is a trademark of Rohm and Hass Company.

All other trademarks referenced are trademarks of their respective owners.

RMS #91-409-01-TL Issued: 2021/07