

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

A Rapid Membrane Enzyme Immunoassay for the Detection of
Entamoeba histolytica Adhesin in Human Fecal Specimens
Catalog No. T5045 (25 Tests)

IVD *In Vitro* Diagnostic Medical Device

For Canadian Users: For Laboratory Use Only

ESPAÑOL p. 11

Inmunoensayo enzimático rápido de membrana para la detección de
adhesina de *Entamoeba histolytica* en muestras fecales humanas
N.º de catálogo. T5045 (25 pruebas)

IVD Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

DEUTSCH p. 21

Membranenzymimmunoassay-Schnelltest für den Nachweis von
Entamoeba histolytica Adhäsion in menschlichen Stuhlproben
Katalognr. T5045 (25 Tests)

IVD Medizinprodukt für die *In-Vitro*-Diagnostik

FRANCAISE p. 30

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

Catalogue n° T5045 (25 tests)

IVD Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

Pour les utilisateurs canadiens: Pour usage en laboratoire seulement

U. S. Patent #8,343,726

Made in the USA

Developed and Manufactured by:

TECHLAB®

2001 Kraft Drive

Blacksburg, VA 24060-6358 USA

www.techlab.com



EC REP Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

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.

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 <i>E. histolytica</i> 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, 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
- Timer
- Wooden Applicator Sticks
- Pipettor and tips

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. 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.
3. Bring all components to room temperature before use to ensure proper kit reactivity.
4. 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.
5. Reagents from different kits should not be mixed or interchanged. Do not use a kit past the expiration date.
6. Caps, tips and dropper assemblies are color-coded; do NOT mix or interchange!
7. 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.
8. 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.
9. 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."
10. Wear disposable gloves when doing the test.
11. 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. If skin 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.
12. Follow your national, regional, and local ordinances accordingly for waste disposal regulations.

COLLECTION, HANDLING AND STORAGE OF FECAL SPECIMENS

Acceptable Sample Types
Fresh Fecal Specimens
Frozen Fecal Specimens (frozen undiluted)
Fecal specimens in transport media (e.g. Cary Blair, C&S)

Do Not Use
Fecal specimens in Formalin-based fixative (e.g. Sodium Acetate Formalin, 10% formalin)
Fecal specimens in alcohol-based fixative (e.g. Polyvinyl Alcohol)

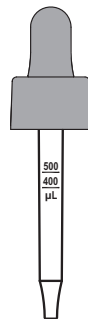
Sample Storage Temperature	Acceptable Length of Storage	Comments
Room Temperature (18°C - 25°C)	24 hours	Fresh samples that will be tested within 24 hours may remain at room temperature (18°C – 25°C). If testing is not planned in <24 hours, refrigerate (2°C – 8°C) as soon as possible following collection.
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.

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

TEST PROCEDURE

1. Be attentive to the total assay time when testing more than one fecal specimen.
2. 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.
3. Set up and label one small test tube for each specimen and optional external control.
4. 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.

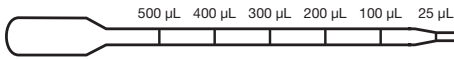
Sample Type	Volume of <i>Diluent</i>
Fresh Fecal Specimens	500 µL (2 nd graduation from tip)
Frozen Fecal Specimens (frozen undiluted)	500 µL (2 nd graduation from tip)
Specimens in transport media (Cary Blair, C&S)	400 µL (1 st graduation from tip)
External Controls (positive and negative)	500 µL (2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



5. **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.

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

Graduated Transfer Pipette:



7. **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:**
 Optional 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

Sample Well

Reaction Window



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 μ L 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 of the *Reaction Window* representing the test line. The lines may appear faint to dark in intensity.
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. Do not interpret membrane discoloration or shadow 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 *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK*™ test.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Vibrio parahemolyticus</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Adenovirus, 2, 5, 40, 41	Human Coxsackievirus B2, B3, B4
Coxsackievirus B5	Human Echovirus 9
Echovirus 11, 18, 22, 33	Human Enterovirus 69, 70, 71
Enterovirus 68, 69	Human parechovirus 1
Human Adenovirus 1, 3	[Echovirus 22]
Human Coronavirus	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 moshkovskii</i> (3)
<i>Blastocystis hominis</i> (12)	<i>Giardia</i> spp. (45)
<i>Cryptosporidium</i> spp. (30)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (10)
<i>Entamoeba bangladeshi</i> (3)	<i>Trichuris trichiura</i> eggs (11)
<i>Entamoeba coli</i> (13)	

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), Nonoxynol-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), Prilosec 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 $\leq -10^{\circ}\text{C}$ 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.

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.

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 trofozoítos y los quistes no se identifican fácilmente en una muestra fecal única y es difícil distinguir visualmente entre *E. dispar* y *E. histolytica* cuando se observan. La detección de especies de *Entamoeba* mediante inmunoensayo supone un método diagnóstico alternativo con mayor sensibilidad (2). Los inmunoensayos específicos para *E. histolytica*, como la prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™*, aportan el beneficio añadido de identificar exclusivamente las infecciones por *E. histolytica*. Se pueden analizar con rapidez y objetividad gran número de muestras y el procedimiento es menos laborioso que la mayoría de los demás métodos de diagnóstico.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* utiliza anticuerpos específicos de *E. histolytica*. El *dispositivo de membrana* contiene una *ventana de reacción* con dos líneas verticales de anticuerpos inmovilizados. La línea de prueba ("T") contiene anticuerpos monoclonales específicos para la adhesina de *E. histolytica*. La línea de control ("C") contiene anticuerpos frente a la peroxidasa de rábano picante (HRP). El *conjugado* contiene anticuerpos frente a *E. histolytica* unidos a peroxidasa de rábano picante. Para realizar 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 captados 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/confirma 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, 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
- Pipeta y puntas de pipeta
- Guantes desechables
- 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

1. Producto sujeto a prescripción médica
2. 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.
3. Lleve todos los componentes a temperatura ambiente antes de su uso para garantizar la reactividad adecuada del kit.
4. 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.
5. No deben mezclarse ni intercambiarse reactivos de kits diferentes. No utilice los kits después de la fecha de caducidad.
6. Los tapones, las puntas y los cuentagotas están codificados con colores y NO deben mezclarse.
7. 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.
8. 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.
9. 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."
10. 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. En caso de irritación o erupción cutánea, consultar a un médico. Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. Manejar 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; consultar 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 FECALES

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

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).
Refrigerada (2 °C – 8 °C)	1 semana	Si no está previsto analizarlas en menos de 24 horas, se deben refrigerar (2 °C – 8 °C) en cuanto sea posible tras su recogida.
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.

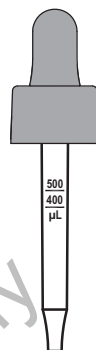
- Utilice los procedimientos estándar de recogida y transporte de las muestras fecales utilizados a nivel interno. Recoja las muestras fecales en recipientes limpios y a prueba de fugas.
- No conserve las muestras fecales en el *diluyente*.

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.

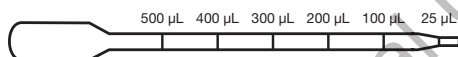
4. Añada 500 µl de *diluyente* (2.^a graduación desde la punta) a cada tubo para muestras fecales recientes o congeladas y para los controles externos utilizando el cuentagotas graduado gris. En el caso de muestras en medios de transporte como Cary Blair o C&S, añada 400 µl de *diluyente* (1.^a graduación 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)



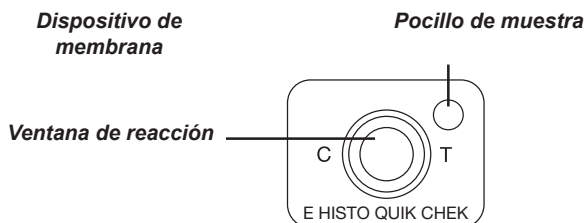
5. **Añada una gota de conjugado (frasco con tapón rojo) a cada tubo.** Sostenga los frascos del cuentagotas verticalmente para garantizar un tamaño de gota adecuado. El *diluyente* y el *conjugado* deben añadirse a los tubos antes de añadir las muestras.
6. Utilice una pipeta de plástico desechable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

Pipeta de transferencia graduada:



7. **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*. Emulsione 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.
8. **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.
9. 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*.
10. Abra 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.



11. 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.
12. **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.

13. **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.
14. **Añada 2 gotas de sustrato (frasco con tapón blanco) a la ventana de reacción.**
15. Incube durante 10 minutos a temperatura ambiente. Lea y anote los resultados observados después de 10 minutos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS



Resultado positivo



Resultado negativo



Resultado no válido



Resultado no válido

1. 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.
2. 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.
3. 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*.

4. 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

1. 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.
2. La prueba *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* es cualitativa. La intensidad del color no debe interpretarse cuantitativamente.
3. 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.
4. 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
		Límites 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 período 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™*.

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)
Staphylococcus epidermidis
Vibrio parahaemolyticus
Yersinia enterocolitica

Adenovirus, 2, 5, 40, 41
 Virus de Coxsackievirus B5
 Echovirus 11, 18, 22, 33
 Enterovirus 68, 69
 Adenovirus humano 1, 3
 Coronavirus humano

Virus de Coxsackie humano B2, B3, B4
 Echovirus humano 9
 Enterovirus humano 69, 70, 71
 Parechovirus humano 1
 [Echovirus 22]
 Rotavirus humano

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 moshkovskii</i> (3)
<i>Blastocystis hominis</i> (12)	<i>Giardia</i> spp. (45)
<i>Cryptosporidium</i> spp. (30)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (10)
<i>Entamoeba bangladeshi</i> (3)	Huevos de <i>Trichuris trichiura</i> (11)
<i>Entamoeba coli</i> (13)	

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.

E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™

VERWENDUNGSZWECK

Der *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* Test von TECHLAB® ist ein Membranenzymimmunoassay-Schnelltest für den qualitativen Nachweis von Adhäsion 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.

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*-Adhäsion. Die Kontrolllinie („C“) enthält Antikörper gegen Meerrettich-Peroxidase (MRP). Das *Konjugat* besteht aus an Meerrettich-Peroxidase gebundenen Antikörpern gegen *E. histolytica*. Zur Durchführung des Tests wird die Probe einem Reagenzglas mit einer Mischung aus *Verdünnungspuffer* und *Konjugat* hinzugefügt. Die verdünnte Proben-Konjugat-Mischung wird in die *Probenvertiefung* gegeben und die Testkarte bei Raumtemperatur 15 Minuten inkubiert. Während der Inkubation bindet in der Probe vorhandenes *E. histolytica*-Adhäsion an das Antikörper-Peroxidase-Konjugat. Die Antigen-Antikörper-Peroxidase-Komplexe migrieren durch ein Filterpad zu einer Membran, wo sie von den immobilisierten Anti-Adhäsion-Antikörpern auf der Linie eingefangen werden. Anschließend wird das Reaktionsfenster mit *Waschpuffer* gewaschen und *Substrat* zugegeben. Nach 10-minütiger Inkubation wird das *Reaktionsfenster* mittels Sichtkontrolle auf das Erscheinen von vertikalen blauen Linien auf der „C“- und „T“-Seite des Reaktionsfensters untersucht. Eine blaue Linie auf der „T“-Seite des *Reaktionsfensters* 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 Probenmigration 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 *E. histolytica*, gebunden an Meerrettich-Peroxidase, in einer gepufferten Proteinlösung (enthält 0,05% ProClin® 300)*

DIL|SPE **Verdünnungspuffer (16 mL)** – Gepufferte Proteinlösung mit grauem graduierem Tropfer (enthält 0,05% ProClin® 300)*

CONTROL|+ **Positive Kontrolle (1 mL)** – *E. histolytica*-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 graduierem Tropfer (enthält 0,05% ProClin® 300)*

*(enthält 0,05% ProClin® 300)

Signalwort: Warnung

H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen

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



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

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTES MATERIAL (NICHT ENTHALTEN)

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

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum des Testkits ist auf dem Verpackungsetikett 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. 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.
3. Lassen Sie alle Bestandteile vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen, um eine ordnungsgemäße Reaktivität des Kits sicherzustellen.
4. Das *Substratreagens* muss farblos sein. Sollte das *Substratreagens* eine dunkelblaue/ violette Färbung annehmen, wenden Sie sich bitte an den Kundendienst für einen Ersatz.
5. Reagenzien aus verschiedenen Kits nicht mischen oder miteinander vertauschen. Verwenden Sie das Testkit nicht nach dem Verfallsdatum.
6. Verschlüsse, Spitzen und Tropfer sind farbkodiert; NICHT vertauschen!
7. 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 extremen Temperaturen aussetzen und vor direktem Sonnenlicht schützen.
8. 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.
9. 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.
10. Tragen Sie während der Durchführung des Tests Einweghandschuhe.
11. 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. Bei Hautreizung oder -rötung, 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.

12. Befolgen Sie alle geltenden nationalen, regionalen und lokalen Verordnungen in Bezug auf die Abfallentsorgung.

ENTNAHME, HANDHABUNG UND LAGERUNG VON STUHLPROBEN

Akzeptable Probenotypen
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)

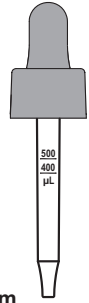
Probenlagerungstemperatur	Akzeptable Lagerdauer	Anmerkungen
Raumtemperatur (18°C – 25°C)	24 Stunden	Frische Proben, die innerhalb von 24 Stunden getestet werden, können bei Raumtemperatur gelagert werden (18°C – 25°C).
Gekühlt (2°C – 8°C)	1 Woche	Werden die Proben nicht innerhalb von 24 Stunden getestet, 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.

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

TESTVERFAHREN

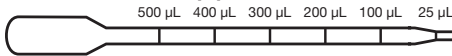
1. Achten Sie beim Testen mehrerer Stuhlproben auf die Gesamttestzeit.
2. Lassen Sie alle Reagenzien und Testkarten vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen. Nehmen Sie die Reagenzien aus dem Schaumstoffeinsatz, um die Aufwärmzeit zu verkürzen.
3. Verwenden Sie für jede Stuhlprobe und jede zusätzliche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

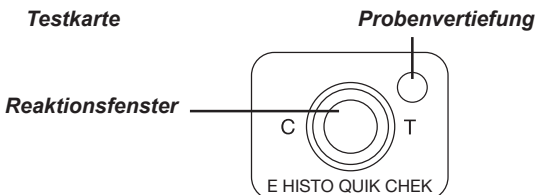


- Fügen Sie jedem Reagenzglas einen Tropfen Konjugat (Flasche mit rotem Verschluss) hinzu.** Tropfflasche senkrecht, um die richtige Tropfengröße sicherzustellen. Der *Verdünnungspuffer* und das *Konjugat* sollten allen Reagenzgläsern vor den Proben hinzugefügt werden.
- Sie benötigen 1 Einweg-Kunststofftransferpipette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

Graduierte Transferpipette:



- Flüssige/halbfeste Proben** - Proben gründlich mischen. Geben Sie mithilfe einer Transferpipette 25 µL Probe in die *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung in dem Reagenzglas.
Feste Stuhlproben - Mischen Sie die Probe gründlich mithilfe eines Applikatorstäbchens durch und übertragen Sie eine kleine Probenmenge (ca. 2 mm Durchmesser, entspricht der Menge von 25 µL) in die *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung. Emulgieren Sie die Probe mit dem Applikatorstäbchen.
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.



11. 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.
12. **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.
13. **Nach der Inkubation geben Sie 300 µL Waschpuffer in das Reaktionsfenster in der Mitte. Verwenden Sie dazu den graduierten weißen Tropfer.** Warten Sie, bis der *Waschpuffer* vollständig absorbiert ist.
14. **Geben Sie 2 Tropfen Substrat (Flasche mit weißem Verschluss) in das Reaktionsfenster in der Mitte.**
15. 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

1. Die Auswertung des Tests ist am verlässlichsten, wenn die Ergebnisse sofort nach Ende der zehnmütigen 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.
2. 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 Farbintensität der Linien kann schwach bis stark sein.
3. 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 Farbintensität 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.
4. 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 ungültigen 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® C&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.

<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Escherichia coli</i> EIEC
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i> EPEC
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i> ETEC
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan's)
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Yersinia enterocolitica</i>
Adenovirus, 2, 5, 40, 41	Humanes Coxsackievirus B2, B3, B4
Coxsackievirus B5	Humanes Echovirus 9
Echovirus 11, 18, 22, 33	Humanes Enterovirus 69, 70, 71
Enterovirus 68, 69	Humanes parechovirus 1
Humanes Adenovirus 1, 3	[Echovirus 22]
Humanes Coronavirus	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.

<i>Ascaris lumbricoides</i> m. Eiern (21)	<i>Entamoeba moshkovskii</i> (3)
<i>Blastocystis hominis</i> (12)	<i>Giardia</i> spp. (45)
<i>Cryptosporidium</i> spp. (30)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (10)
<i>Entamoeba bangladeshi</i> (3)	<i>Trichuris trichiura</i> (Eier) (11)
<i>Entamoeba coli</i> (13)	

Stammesspezifische 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 Schweinemagen (3,5% w/v), Humanblut (40% v/v), Hydrocortison (1% w/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Leukozyten (0,05% w/v), Maalox® Advanced (5% v/v), Mesalazin (10% w/v), Metronidazol (0,25% w/v), Mineralöl (10% w/v), Mylanta® (4.2 mg/mL), Naproxen-Natrium (5% w/v), Nonoxynol-9 (40% w/v), Nystatin (1% w/v), Palmitinsäure/Stuhlfett (40% w/v), Pepto-Bismol® (5% v/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.

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.

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.

MATÉRIEL FOURNI

- MEM | DEV** **Dispositifs à membrane** – Un sachet contient 1 dispositif
- CONJ | ENZ** **Conjugué (2 ml)** – Anticorps spécifiques à l'*E. histolytica* conjugués à la peroxydase de raifort, dans une solution tamponnée et protéinée (contient 0,05 % de ProClin® 300)*
- DIL | SPE** **Diluant (16 ml)** – Solution tamponnée et protéinée avec compte-gouttes gradué gris (contient 0,05 % de ProClin® 300)*
- CONTROL | +** **Contrôle positif (1 ml)** – Antigène *E. histolytica* dans une solution tamponnée et protéinée (contient 0,05 % de ProClin® 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 ProClin® 300)*

*(contient 0,05 % de ProClin® 300)

Mot indicateur : Avertissement

H317 : Peut provoquer une allergie cutanée

P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, 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)*
- *Écouvillons en bois*
- *Pipeteurs et embouts*
- *Gants jetables*
- *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. 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.
3. Placer tous les composants à température ambiante avant utilisation afin de garantir la bonne réactivité du kit.
4. 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.
5. Les réactifs des différents kits ne doivent pas être mélangés ou échangés. Ne pas utiliser de kit dont la date d'expiration serait dépassée.
6. Les capsules, les embouts et les compte-gouttes sont classés par couleur. Ne PAS les mélanger !
7. 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.
8. 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.
9. 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 ».

10. S'équiper de gants jetables pendant le test.
11. 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, ProClin® 300 est connu pour sa nocivité. En cas d'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.
12. 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	
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 décongélation peut entraîner une perte d'activité de l'échantillon suite à une dégradation de l'antigène.

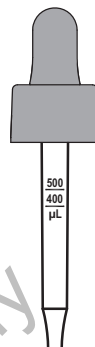
1. Respecter les procédures standard internes utilisées sur place pour le prélèvement et la manipulation des échantillons de selles. Prélever les échantillons de selles dans des contenants propres et étanches.
2. Ne pas stocker les échantillons de selles dans le *Diluant*.

PROCÉDURE DE TEST

1. Surveiller la durée totale de l'analyse si plusieurs échantillons de selles sont testés.
2. 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.
3. Préparer et étiqueter un petit tube à essai pour chaque échantillon et pour chaque contrôle externe.

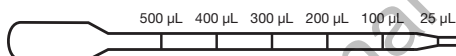
4. À l'aide du compte-gouttes gradué gris, ajouter 500 µl (2^{ème} graduation depuis l'extrémité) de *Diluant* dans chaque tube d'échantillon frais et congelé et de contrôles externes. Pour les échantillons en milieu de transport tel qu'un Cary Blair ou un C&S, ajouter 400 µl (1^{ère} graduation depuis 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)



5. **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.
6. Se munir d'une pipette de transfert en plastique jetable (fournie dans le kit) pour chaque échantillon.

Pipette de transfert graduée :

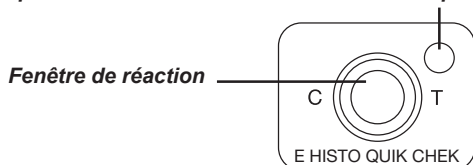


7. **Pour les échantillons liquides/semi-solides** - Mélanger complètement l'échantillon. À l'aide d'une pipette de transfert, ajouter 25 µl d'échantillon au mélange *Diluant/Conjugué* dans le tube.
- Pour les échantillons formés/solides** - Mélanger complètement l'échantillon à l'aide d'un écouvillon 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.*
8. **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.
9. 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*.
10. 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*.

4. 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.
5. 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

1. 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.
2. Le test *E. HISTOLYTICA QUIK CHEK™* est un test qualitatif. L'intensité de la couleur ne doit pas être interprétée en termes quantitatifs.
3. 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.
4. 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 *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 secrète 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 relative 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 Protocoll™ 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™*.

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

Adénovirus, 2, 5, 40, 41
 Coxsackievirus B5
 Échovirus 11, 18, 22, 33
 Entérovirus 68, 69
 Adénovirus humain 1, 3
 Coronavirus humain

Coxsackievirus humain B2, B3, B4
 Échovirus humain 9
 Entérovirus humain 69, 70, 71
 Paréchovirus humain 1
 [Échovirus 22]
 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 moshkovskii</i> (3)
<i>Blastocystis hominis</i> (12)	<i>Giardia</i> spp. (45)
<i>Cryptosporidium</i> spp. (30)	<i>Iodamoeba bütschlii</i> (10)
<i>Entamoeba bangladeshi</i> (3)	<i>Trichuris trichiura</i> œufs (11)
<i>Entamoeba coli</i> (13)	

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 se 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.

REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA / QUELLENANGABE / RÉFÉRENCES

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.

Technical Support

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

US	+ 1 800 TECHLAB
Phone	(540) 953-1664
Fax	(540) 953-1665

© 2019 TECHLAB, Inc. All rights reserved.

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

All other trademarks referenced are trademarks of their respective owners.