

RIDASCREEN® Entamoeba

REF C1701



1. Campo di applicazione

Per uso diagnostico *in vitro*. RIDASCREEN® Entamoeba è un test immunoenzimatico per la rilevazione qualitativa di *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar* in campioni di feci umane.

2. Sintesi e spiegazione del test

Ogni anno, in tutto il mondo fino a 500 milioni di persone si infettano con *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. Le analisi genetiche molecolari hanno dimostrato che questi protozoi, identificati dai metodi diagnostici tradizionali e definiti *Entamoeba histolytica*, sono due specie con una morfologia che non può essere differenziata. Una è la specie patogena *Entamoeba histolytica* e l'altra è l'*Entamoeba dispar*, che non è patogena allo stato attuale delle conoscenze.

La sintomatologia clinica di amebiasi è prodotta dall'invasione del parassita dal lume intestinale nella membrana mucosa del colon. Qui spesso si trovano trofozoiti con eritrociti fagocitati. Date le loro dimensioni, questi trofozoiti sono noti come forma "magna". I risultati dell'invasione nella mucosa intestinale sono diarrea, dissenteria e persino amebomi. In seguito alla disseminazione, le complicazioni potenziali includono ascessi nel fegato, nei polmoni e, in casi molto rari, persino nel cervello, soprattutto con un decorso fatale della malattia se non curata.

I sintomi clinici della forma intestinale acuta di amebiasi sono crampi addominali dolorosi con nausea e diarrea massiccia con sangue e muco nelle feci. La fase acuta della malattia può svilupparsi in una condizione cronica con occasionale diarrea che si alterna a costipazione, dolore addominale, nausea e vomito. La letteratura include descrizioni di portatori delle cisti completamente asintomatici.

Per un'identificazione diretta degli agenti patogeni, i metodi di immunodosaggio sensibili come RIDASCREEN® ELISA con anticorpi antiadesina specifici sono molto più vantaggiosi dell'analisi al microscopio. L'adesina specifica dell'*Entamoeba* è una proteina di superficie che si lega specificamente al galattosio o alla N-acetilgalattosamina degli eritrociti dell'ospite e favorisce la successiva invasione da parte dell'agente patogeno attraverso la lisi di queste cellule.

Circa il 10 % di tutti i casi di dissenteria amebica acuta sono seguiti da complicazioni extraintestinali come ascessi epatici o infezione di altri organi. L'identificazione degli anticorpi tramite analisi sierologica è indicata nel caso di amebiasi extraintestinale. Questo metodo rende la diagnosi indipendente dalla valutazione soggettiva ed è più sensibile nella rilevazione delle parti non più identificabili morfologicamente.

Normalmente i titoli anticorpali possono essere determinati contemporaneamente alla manifestazione della sintomatologia e l'identificazione immediatamente successiva di anticorpi specifici consente di rilevare *E. histolytica*. Questo offre inoltre la possibilità di differenziazione tra i livelli di titoli dell'amebiasi intestinale ed extraintestinale, importante nella selezione del trattamento.

3. Principio del test

Il test RIDASCREEN® Entamoeba utilizza anticorpi specifici in un metodo a sandwich. La superficie dei pozzetti della micropiastra viene rivestita con anticorpi specifici agli antigeni di *Entamoeba histolytica* ed *Entamoeba dispar*. Una sospensione del campione di feci da esaminare e i controlli vengono introdotti nel pozzetto della piastra per microtitolazione insieme ad anticorpi anti-Entamoeba biotinilati (Coniugato 1) mediante pipetta a temperatura ambiente (20 – 25 °C) per l'incubazione. Dopo il lavaggio aggiungere il poli-coniugato streptavidina-perossidasi (Coniugato 2) e incubare nuovamente a temperatura ambiente (20 - 25 °C). Alla presenza di antigeni di Entamoeba in un campione, si forma un complesso a sandwich composto dagli anticorpi immobilizzati, dall'antigene di Entamoeba e dall'anticorpo coniugato. Un altro lavaggio rimuove il poli-coniugato streptavidina-perossidasi non legato. Nei campioni positivi, l'aggiunta di un substrato trasforma l'enzima legato da una soluzione incolore in una soluzione blu. L'aggiunta di un reagente bloccante causa una variazione cromatica da blu a giallo. L'estinzione è proporzionale alla concentrazione di antigeni di Entamoeba presenti nel campione.

4. Contenuto della confezione

I reagenti nel kit sono sufficienti per 96 determinazioni.

Plate	96	Piastra per microtitolazione, 12 strisce di micropozzetti (divisibili) in telaio di fissaggio, rivestita con anticorpi monoclonali (murini) specifici agli anticorpi anti- <i>Entamoeba histolytica</i> ed <i>Entamoeba dispar</i>
Diluent 1	100 ml	Tampone di diluizione dei campioni, soluzione proteica tamponata NaCl; pronto per l'uso, colorazione in blu
Wash buffer	100 ml	Tampone di lavaggio, soluzione salina tamponata al fosfato (concentrata 10 volte); contiene 0,1 % di Thimerosal
Control +	2 ml	Antigene di Entamoeba inattivato; pronto per l'uso
Control -	2 ml	Controllo negativo (tampone di diluizione dei campioni); pronto per l'uso
Conjugate 1	13 ml	Anticorpi (murini) biotina-coniugati agli antigeni di Entamoeba in una soluzione proteica stabilizzata; pronti per l'uso; colorazione in verde
Conjugate 2	13 ml	Poli-coniugato streptavidina-perossidasi in soluzione proteica tamponata; pronto per l'uso; colorato in arancione
Substrate	13 ml	Perossido di idrogeno/TMB; pronto per l'uso
Stop	12 ml	Reagente di bloccaggio; acido solforico 1 N; pronto per l'uso

Le sostanze pericolose sono indicate in base ai requisiti di etichettatura. Per ulteriori dettagli consultare le schede dei dati di sicurezza (SDS) su www.r-biopharm.com.

5. Istruzioni di conservazione

Tutti i reagenti devono essere conservati a 2 - 8 °C e possono essere utilizzati fino alla data stampata sull'etichetta. Il tampone di lavaggio diluito è utilizzabile per quattro settimane se conservato a una temperatura compresa tra 2 - 8 °C. Evitare la contaminazione microbica. Dopo la data di scadenza, non può essere più fornita alcuna garanzia di qualità.

La busta in alluminio deve essere aperta con le forbici, in modo tale da non rimuovere la chiusura a clip. Le strisce per microtitolazione inutilizzate devono essere immediatamente riposte nella busta in alluminio e conservate a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C.

Evitare l'esposizione diretta alla luce del substrato incolore, per evitare la decomposizione o la colorazione blu per auto-ossidazione. Un substrato che sia diventato blu non deve essere utilizzato.

6. Reagenti necessari ma non in dotazione

6.1 Reagenti necessari

Per il test RIDASCREEN® Entamoeba occorrono i seguenti reagenti:

Reagenti
Acqua distillata o deionizzata

6.2 Attrezzatura di laboratorio necessaria

Per il test RIDASCREEN® Entamoeba occorre la seguente attrezzatura:

Attrezzatura
Provette
Pipette monouso (Codice articolo: Z0001)
Vorticatore (opzionale, vedere Punto 9.3.)
Micropipetta da 50 – 100 µl e 1 ml in volume
Cilindro graduato (1.000 ml)
Cronometro
Dispositivo di lavaggio per piastre per microtitolazione o pipette multicanale (300 µl)
Fotometro per piastre per microtitolazione (450 nm e filtro di riferimento 620 - 650 nm)
Carta filtrante (carta da laboratorio)

7. Avvertenze e misure precauzionali

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Questo test deve essere condotto esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici. Attenersi rigorosamente alle istruzioni per l'uso nell'esecuzione del test.

Non introdurre con la bocca campioni o reagenti mediante pipetta, evitare il contatto con la cute lesa o con le mucose. Durante la manipolazione dei campioni indossare guanti monouso e lavare le mani dopo aver eseguito il test. Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si opera con i campioni.

Per maggiori informazioni consultare la Scheda di sicurezza dei materiali (MSDS) all'indirizzo www.r-biopharm.com.

Il kit include un controllo positivo che contiene l'antigene di Entamoeba inattivato. Deve essere trattato come potenzialmente infettivo, analogamente ai campioni dei pazienti, e maneggiato in conformità alle disposizioni di sicurezza nazionali vigenti.

Il tampone di lavaggio contiene 0,1 % di Thimerosal come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le membrane mucose.

Garantire uno smaltimento idoneo e responsabile di tutti i reagenti e i materiali dopo l'uso. Per lo smaltimento attenersi alle disposizioni nazionali.

8. Raccolta e conservazione dei campioni

Fino all'uso, conservare il materiale di test a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Qualora il materiale non possa essere utilizzato per un test entro tre giorni, si raccomanda di conservarlo a una temperatura di -20 °C o inferiore. Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento del campione. Dopo la diluizione in tampone 1:11, il campione può essere conservato a 2 - 8 °C e dovrà essere utilizzato entro 7 giorni (Tabella 1).

Tabella 1: Conservazione del campione

Campione fecale non diluito		Campione fecale diluito
2 - 8 °C	≤ - 20 °C	2 - 8 °C
≤ 3 giorni	> 3 giorni	≤ 7 giorni

I campioni di feci e i prelievi rettali non devono essere riposti in contenitori per il trasporto contenenti sostanze per il trasporto come conservanti, sieri animali, ioni metallici, agenti ossidanti e detergenti, in quanto potrebbero crearsi interferenze con il test RIDASCREEN® Entamoeba.

Se vengono usati prelievi rettali, assicurarsi che il volume del materiale fecale sia sufficiente (circa 100 mg) per il test.

Le indagini ambientali devono includere anche campioni di feci prelevati da persone che non mostrano sintomi clinici al fine di identificare i portatori asintomatici.

9. Esecuzione del test

9.1 Informazioni generali

Tutti i reagenti e la piastra di microtitolazione **Plate** devono essere portati a temperatura ambiente (20 - 25 °C) prima dell'uso. Le strisce per microtitolazione devono essere rimosse dalla busta in alluminio solo dopo il raggiungimento della temperatura ambiente. Mescolare con cura i reagenti immediatamente prima dell'utilizzo. Dopo l'uso, le strisce di micropozzetti (inserite in buste sigillate) e i reagenti devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Una volta usate, le strisce di micropozzetti non devono essere riutilizzate. I reagenti e le

strisce per microtitolazione non devono essere utilizzati se l'imballaggio è danneggiato o i flaconi non sono ermetici.

Evitare il contatto diretto dei campioni con i componenti del kit per evitare la contaminazione incrociata.

Il test non deve essere esposto all'irradiazione solare diretta. Si raccomanda di coprire o sigillare con una pellicola in plastica la piastra per microtitolazione per evitare la perdita per evaporazione.

9.2 Preparazione del tampone di lavaggio

Miscelare 1 parte di concentrato di tampone di lavaggio **Wash buffer** con 9 parti di acqua distillata. Eventuali cristalli presenti nel concentrato devono essere precedentemente riscaldati in un bagnomaria a 37 °C per scioglierli.

9.3 Preparazione dei campioni

Introdurre in una provetta marcata 1 ml di tampone per diluizione dei campioni RIDASCREEN® **Diluent | 1**. Utilizzare una pipetta monouso (codice prodotto Z0001) per aspirare un campione di feci liquide (circa 100 µl) fino a superare di poco la seconda graduazione e aggiungerlo al tampone nella provetta per ottenere una sospensione.

Per sospendere un campione di feci solido, utilizzare una quantità equivalente (circa 50-100 mg) del campione, maneggiandolo con una spatola o un'ansa di inoculazione monouso.

Omogeneizzare la sospensione fecale mediante aspirazione ed espulsione tramite pipetta monouso oppure, in alternativa, miscelare in un vorticatore.

Lasciare riposare la sospensione per un breve periodo affinché le particelle di feci più grandi possano depositarsi, quindi il supernatante di sospensioni di feci purificato è pronto per essere utilizzato direttamente nel test. Se la procedura viene eseguita in un sistema ELISA automatico, il supernatante non deve contenere particelle. In questo caso, è consigliabile centrifugare il campione a 2.500 G per 5 minuti.

Nota: I campioni di feci diluiti in **Diluent | 1 possono essere utilizzati in qualsiasi altro test RIDASCREEN® ELISA a condizione che anche questo impieghi il diluente **Diluent | 1**.**

9.4 Prima incubazione

Dopo aver inserito un numero sufficiente di pozzetti nel telaio di fissaggio, introdurre 100 µl di controllo positivo **Control |+**, controllo negativo **Control |-** o sospensione di feci. Quindi aggiungere 100 µl dell'anticorpo biotina-coniugato **Conjugate | 1** e miscelare (dando dei leggeri colpi sul bordo della piastra); successivamente incubare per 30 minuti a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.5 Lavaggio

Un accurato lavaggio è importante per ottenere i giusti risultati e deve pertanto essere effettuato in stretta conformità con le istruzioni. Il prodotto di incubazione nei pozzetti deve essere svuotato in un contenitore per rifiuti per poi essere smaltito nel rispetto delle disposizioni locali. Quindi, tamponare la piastra su carta assorbente per rimuovere l'umidità residua. Lavare la piastra cinque volte utilizzando 300 µl di lampone di lavaggio **Wash buffer** ogni volta. Assicurarsi che i pozzetti vengano completamente svuotati estroflettendoli tamponandoli dopo ciascun lavaggio su un'area di carta assorbente ancora asciutta e inutilizzata.

Se si utilizza una lavatrice per micropiastre o un sistema ELISA completamente automatico, assicurarsi che la macchina sia correttamente regolata e, se necessario, chiedere le impostazioni al produttore. I dispositivi forniti da R-Biopharm sono già programmati con le impostazioni e i protocolli di lavoro convalidati.

Per evitare di bloccare gli aghi di lavaggio, introdurre solo sospensioni di feci prive di particelle (vedere Punto 9.3., Preparazione dei campioni). Inoltre, assicurarsi che tutto il liquido venga aspirato in ogni fase di lavaggio.

9.6 Seconda incubazione

Utilizzare una pipetta per introdurre 100 µl di poli-coniugato streptavidina-perossidasi **Conjugate 2** nei campioni, quindi incubare per 15 minuti a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.7 Lavaggio

Lavare come descritto al Punto 9.5.

9.8 Terza incubazione

Iniettare nei pozzetti 100 µl di substrato **Substrate**. Quindi incubare la piastra per 15 minuti al buio a temperatura ambiente (20–25 °C). Successivamente inserire in tutti i pozzetti 50 µl di reagente bloccante **Stop** per arrestare la reazione. Dopo aver accuratamente miscelato picchiettando leggermente sul lato della piastra, misurare l'estinzione alle **lunghezze d'onda di 450 nm e 620 nm**.

Nota: I campioni di pazienti altamente positivi possono causare precipitati nerastri del substrato.

10. Controllo qualità: indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

Per il controllo della qualità eseguire il controllo positivo e negativo ad ogni esecuzione del test, per garantire la stabilità dei reagenti e la corretta esecuzione del test. Il test è eseguito correttamente se il tasso di estinzione (O.D.) del controllo negativo è inferiore a 0,2 a 450 nm (inferiore a 0,160 a 450/620 nm) e il valore di misurazione del controllo positivo è superiore a 0,8 a 450 nm o a 450/620 nm. Un valore superiore a 0,2 (0,160) per il controllo negativo può indicare un lavaggio

insufficiente. La deviazione dai valori richiesti, proprio come un'opacizzazione o una colorazione blu del substrato incolore prima dell'inserimento nei pozzetti, può indicare che i reagenti sono scaduti. Se i valori stipulati non vengono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare i seguenti punti:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità dell'attrezzatura utilizzata (p.es. calibrazione)
- Procedura di esecuzione del test corretta
- Controllare visivamente che i componenti del kit non presentino contaminazione o perdite: non utilizzare una soluzione di substrato che sia diventata blu.

Se le condizioni continuano a non essere soddisfatte dopo la ripetizione del test, rivolgersi al produttore o al proprio distributore R-Biopharm locale.

11. Valutazione e interpretazione

11.1. Calcolo del valore limite

Per stabilire il valore limite, introdurre 0,150 unità di estinzione all'estinzione misurata per il controllo negativo.

$$\text{Valore limite} = \text{estinzione per il controllo negativo} + 0,150$$

11.2. Risultati del test

Il campione è considerato positivo se il tasso di estinzione supera il valore limite calcolato di più del 10 %.

Il campione viene considerato marginale se il tasso di estinzione è compreso tra 10 % in meno e 10 % in più rispetto al valore limite. Se l'esame ripetuto con un campione di feci fresco rientra ancora nella zona grigia, il campione viene considerato negativo.

I campioni con estinzioni superiori al 10 % al di sotto del limite calcolato devono essere considerati negativi.

12. Limiti del metodo

Il test The RIDASCREEN® Entamoeba identifica gli antigeni di *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar*. Non è possibile stabilire una relazione tra il livello di estinzione rilevato e l'insorgenza o la gravità della sintomatologia clinica. I risultati ottenuti devono sempre essere interpretati tenendo conto dei segni e dei sintomi clinici.

Un risultato positivo non esclude la presenza di altri patogeni infettivi.

Un risultato negativo non esclude la possibilità di amebiasi. Un risultato simile può essere dovuto a escrezione intermittente dell'agente patogeno oppure è possibile che la quantità di antigene nel campione sia insufficiente. Qualora a livello anamnestico sussista il sospetto di infezione da *Entamoeba histolytica*, l'esame deve essere ripetuto con un altro campione di feci. Se esiste una ragione per sospettare amebiasi extraintestinale, il sospetto può essere confermato dall'identificazione di anticorpi specifici a *Entamoeba histolytica* nel siero (RIDASCREEN® E. histolytica IgG, Art. N.: K1721).

Un risultato marginale può essere dovuto a distribuzione non omogenea di antigeni nel campione di feci. In questo caso, l'esame deve essere ripetuto con una seconda sospensione dallo stesso campione o in alternativa dovrà essere richiesto un altro campione di feci.

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1 Sensibilità analitica

Per determinare la sensibilità analitica del test RIDASCREEN® Entamoeba ELISA, è stata prodotta e quindi misurata in triplicati una serie di diluizione lineare tratta da un campione con una quantità nota di cisti di Entamoeba. Il limite di rilevazione (LoD) è l'ultima concentrazione valutabile come positiva in tutti i replicati. I risultati di questo studio sono presentati nella Tabella 2.

Tabella 2: Risultati di sensibilità analitica per *Entamoeba histolytica* nel test RIDASCREEN® Entamoeba ELISA

	<i>E. histolytica</i>		<i>E. dispar</i>	
	MV [OD 450/620]	Cisti / Reazione	MV [OD 450/620]	Cisti / Reazione
LoD	0,173	17	0,200	595

13.2 Confronto con un prodotto concorrente

I campioni di feci precedentemente diagnosticati (10 positivi all'Entamoeba e 30 negativi all'Entamoeba) sono stati analizzati con il test RIDASCREEN® Entamoeba e confrontati con l'ELISA di un concorrente. I risultati di questo studio sono riepilogati nella Tabella 3.

Tabella 3: Confronto tra il test RIDASCREEN® Entamoeba ELISA e un test ELISA concorrente utilizzando campioni di feci

		Concorrente	
		Positivo	Negativo
RIDASCREEN® Entamoeba	Positivo	9	1
	Negativo	0	30

Concordanza positiva: 94,7 %

Concordanza negativa: 98,4 %

Inoltre, è stata prodotta una diluizione seriale da ceppi di *E. histolytica* certificati per uno studio di comparazione di un test RIDASCREEN® Entamoeba ELISA rispetto a due prodotti concorrenti. I risultati sono riportati nella Tabella 4.

Tabella 4: Confronto tra RIDASCREEN® Entamoeba ELISA e due test ELISA concorrenti, utilizzando una miscela di ceppi di *Entamoeba histolytica*

<i>E. histolytica</i>	RIDASCREEN® Entamoeba MV [OD 450/620]	ELISA 1 MV [OD 450/620]	ELISA 2 MV [OD 450/620]
Ceppo HM1:IMSS			
1:10	2,428 +++	3,734 +++	2,533 +++
1:10 ²	3,840 +++	3,566 +++	1,806 +++
1:10 ³	3,885 +++	0,514 -	0,894 ++
1:10 ⁴	3,678 +++	0,015 -	0,313 +
1:10 ⁵	2,528 +++	-0,003 -	0,208 +
1:10 ⁶	0,890 ++	-0,006 -	0,146 +
Ceppo HK9			
1:10	3,129 +++	3,493 +++	2,084 +++
1:10 ²	3,594 +++	3,397 +++	1,498 ++
1:10 ³	3,683 +++	0,750 ++	0,668 ++
1:10 ⁴	3,520 +++	0,050 -	0,251 +
1:10 ⁵	1,695 +++	-0,004 -	0,152 +
1:10 ⁶	0,696 ++	-0,003 -	0,121 -
Ceppo 200:N1H			
1:10	2,269 +++	3,514 +++	2,654 +++
1:10 ²	3,601 +++	3,464 +++	1,975 +++
1:10 ³	3,638 +++	2,616 +++	1,245 ++
1:10 ⁴	3,672 +++	0,327 +	0,444 +
1:10 ⁵	3,239 +++	0,055 -	0,236 +
1:10 ⁶	0,996 ++	0,003 -	0,138 +

OD 450/620 ≥ 1,5: +++

OD 450/620 0,5 – 1,5: ++

OD 450/620 < 0,5: +

OD 450/620 < Cut-off: -

13.3 Reattività incrociata

Diversi microrganismi patogeni del tratto intestinale sono stati esaminati con il test RIDASCREEN® Entamoeba Test e ad eccezione del *Campylobacter coli* non hanno evidenziato reattività incrociata. Questi studi sono stati condotti con batteri non diluiti o sospensioni di virus con concentrazioni di organismi per ml comprese tra 10⁶ e 10⁹. I risultati di questo studio sono riepilogati nella Tabella 5.

Tabella 5: Reattività incrociata con microrganismi patogeni

Organismo	Origine	[OD 450/620] Valor medio
<i>Adenovirus</i>	Supernatante di coltura cellulare	-0,002
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Coltura	-0,005
<i>Arcobacter butzleri</i>	Coltura	0,008
<i>Astrovirus</i>	Supernatante di coltura cellulare	0,001
<i>Bacillus cereus</i>	Coltura	0,003
<i>Bacteroides fragilis</i>	Coltura	-0,005
<i>Campylobacter coli</i>	Coltura	0,196
<i>Campylobacter jejuni</i>	Coltura	0,017
<i>Candida albicans</i>	Coltura	0,019
<i>Citrobacter freundii</i>	Coltura	0,016
<i>Clostridium difficile</i>	Coltura	0,042
<i>Clostridium perfringens</i>	Coltura	0,006
<i>Clostridium sordellii</i>	Coltura	0,007
<i>Cryptosporidium muris</i>	Coltura	0,002
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Coltura	0,006
<i>E. coli (O26:H-)</i>	Coltura	-0,002
<i>E. coli (O6)</i>	Coltura	0,026
<i>E. coli (O157:H7)</i>	Coltura	0,020
<i>Enterobacter cloacae</i>	Coltura	0,002
<i>Enterococcus faecalis</i>	Coltura	0,000
<i>Giardia lamblia</i>	Feci	0,004
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Coltura	0,032
<i>Proteus vulgaris</i>	Coltura	0,003
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Coltura	0,002
<i>Rotavirus</i>	Supernatante di coltura cellulare	-0,003
<i>Salmonella enteritidis</i>	Coltura	-0,004
<i>Salmonella typhimurium</i>	Coltura	0,004
<i>Serratia liquefaciens</i>	Coltura	-0,004
<i>Shigella flexneri</i>	Coltura	0,018
<i>Staphylococcus aureus</i>	Coltura	0,015
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Coltura	-0,001
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Coltura	-0,002
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Coltura	0,001

13.4 Precisione

La riproducibilità intra-test è stata valutata analizzando 40 replicati di questi riferimenti che rappresentavano la gamma di misurazione completa da negativo ad altamente positivo. Sono stati determinati i valori medi e i coefficienti di variazione (CV) per tre lotti dei kit. Per la riproducibilità inter-analisi, le misurazioni dei riferimenti sono state eseguite in 10 giorni lavorativi diversi con 2 serie al giorno con test doppi. Le misurazioni sono state eseguite con tre lotti di kit da parte di tre tecnici. La riproducibilità inter-lotto è stata determinata per tutti e tre i lotti di kit. I risultati di questo studio sono presentati nella Tabella 6.

Tabella 6: Riproducibilità e precisione del test RIDASCREEN® Entamoeba ELISA

Riferimento		Intra-analisi			Inter-analisi			Interlotto
		Lotto del kit 1	Lotto del kit 2	Lotto del kit 3	Lotto del kit 1	Lotto del kit 2	Lotto del kit 3	Lotto del kit 1-3
1	MV [OD 450/620]	1,901	1,402	1,465	1,581	1,707	1,507	1,598
	VC (%)	6,07 %	8,39 %	5,91 %	17,00 %	16,70 %	18,71 %	18,17 %
2	MV [OD 450/620]	1,375	1,095	1,209	1,155	1,253	1,124	1,177
	VC (%)	5,82 %	7,45 %	5,74 %	13,71 %	14,97 %	16,25 %	15,74 %
3	MV [OD 450/620]	1,091	0,976	0,810	0,933	1,010	0,869	0,937
	VC (%)	5,31 %	10,58 %	6,07 %	16,20 %	15,17 %	14,00 %	16,68 %
4	MV [OD 450/620]	0,606	0,532	0,512	0,507	0,556	0,461	0,508
	VC (%)	5,45 %	6,44 %	7,93 %	19,52 %	14,33 %	17,21 %	19,08 %
5	MV [OD 450/620]	0,350	0,325	0,204	0,306	0,330	0,276	0,304
	VC (%)	6,61 %	12,20 %	16,90 %	19,78 %	17,50 %	21,16 %	20,92 %
6	MV [OD 450/620]	-0,001	-0,002	0,000	0,012	0,001	0,005	0,006
	VC (%)	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a

13.5 Sostanze interferenti

Le sostanze include nell'elenco seguente non hanno mostrato effetti sui risultati dei test quando miscelate nei supernatanti di campioni di feci positivi a Entamoeba e negativi a Entamoeba nelle concentrazioni descritte:

Mucine	5,0 % w/w	Diclofenac	0,1 % v/w
Sangue umano	5,0 % v/w	Ciclamato	1,3 % v/w
Peptobismol	6,6 % v/w	Acido stearico e acido palmitico	40 % w/w (1:1)
Loperamide	0,02 % w/w	Metronidazolo	0,5 % soluzione










È stata analizzata una possibile relazione dose-effetto per il solfato di bario (18,5 % w/w) . Questa indagine di una diluizione seriale con solfato di bario non ha tuttavia mostrato una relazione diretta tra la concentrazione e i valori OD. L'unica eccezione è la concentrazione massima testata, ma questa è addirittura superiore alla concentrazione del "caso peggiore" già testata nella prima analisi (tre volte la dose quotidiana). Di conseguenza l'interferenza dovuta al solfato di bario può essere considerata improbabile.

14. Cronologia delle versioni



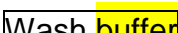
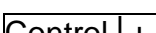
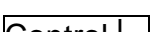
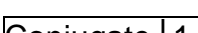
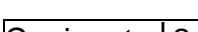
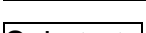

Version number	Chapter and designation
2017-04-20	Versione precedente
2019-07-10	Revisione generale 4. Contenuto della confezione 8. Raccolta e conservazione dei campioni 9.2 Preparazione del tampone di lavaggio 9.5 Lavaggio 9.8 Terza incubazione 13.2 Confronto con un prodotto concorrente

15. Descrizione simboli

Simboli generali

	Diagnostica in vitro
	Leggere il foglio illustrativo
	Codice identificativo
	Utilizzabile fino a
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

Simboli specifici del test

	Piastra da microtitolazione
	Tampone di diluizione 1
	Tampone di lavaggio
	Controllo positivo
	Controllo negativo
	Coniugati 1
	Coniugati 2
	Substrato
	Reagente bloccante

16. Bibliografia

1. Bracha, R. et al.: Differentiation of clinical isolates of *Entamoeba histolytica* by using specific DNA probes. *Clin. Microbiol.* 28 (No. 4), 680 - 684 (1990).
2. Citronberg, R. J., Semel, J. D.: Severe vaginal infection with *Entamoeba histolytica* in a woman who recently returned from Mexico: Case report and review. *Clin. Infect. Dis.* 20, 700 - 702 (1995).
3. Espinosa-Cantellano, M., Martinez-Palomo, A.: *Entamoeba histolytica*: Mechanism of surface receptor capping. *Exp. Parasitol.* 79, 424 - 435 (1994).
4. Katzwinkel-Wladarsch, S. et al.: Direct amplification and differentiation of pathogenic and nonpathogenic *Entamoeba histolytica* DNA from stool specimen. *Am. J. Trop. Med.-Hyg.* 51 (1), 115 - 118 (1994).
5. Kean, B. H. et al.: Epidemic of amoebiasis and giardiasis in a biased population. *Brit. J. Ven. Dis.* 55, 375 - 378 (1979).
6. Mannweiler, E.: Immundiagnostik der Amöbiasis. *Der Mikrobiologe* 5. Jg., Heft 6, 194 - 200 (1995).
7. Ohnishi, K. et al.: Brain abscess due to infection with *Entamoeba histolytica*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 51 (2), 180 - 182 (1994).
8. Petter, R. et al.: Characterization of two distinct gene transcripts for ribosomal protein L 21 from pathogenic and nonpathogenic strains of *Entamoeba histolytica*. *Gene* 150, 181 - 186 (1994).
9. Reed, Sh. L.: New Concepts regarding the pathogenesis of amebiasis. *Clin. Infect. Dis.* 21 (Suppl. 2), 182 - 185 (1995).
10. Strachan, W. D. et al.: Immunological differentiation of pathogenic and non-pathogenic isolates of *Entamoeba histolytica*. *Lancet* 12, 561 - 563 (1988).
11. van Lunzen, J., Tannich, E., Burchard, G.-D.: Amöbenruhr und Amöbenleberabszeß. *Deutsches Ärzteblatt* 93, Heft 2, 2659 - 2665 (1996).