

RIDASCREEN® Entamoeba

REF C1701



1. Uso previsto

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

2. Sumário e explicação do teste

Todos os anos, até 500 milhões de pessoas são infectadas com o *Entamoeba histolytica* e o *Entamoeba dispar* em todo o mundo. As análises de genética molecular têm mostrado que estes protozoários, os quais foram identificados por meio de métodos tradicionais de diagnóstico e designados como *Entamoeba histolytica*, são duas espécies com uma morfologia que não podem ser diferenciadas. Uma delas é a espécie patogênica *Entamoeba histolytica* e a outra é a *Entamoeba dispar*, que não é patogênica no estado atual do conhecimento. Os sintomas clínicos de amebíase são desencadeados pela invasão do parasita a partir do lúmen intestinal para a membrana da mucosa do cólon. Aqui são encontrados com frequência trofozoítos com eritrócitos fagocitados. Devido ao seu tamanho, estes trofozoítos são conhecidos como a forma magna. Os resultados da invasão na mucosa intestinal são diarreia, disenteria, ou mesmo ameboma. Após a disseminação, as potenciais complicações incluem abscessos no fígado, nos pulmões, e em casos muito raros, até mesmo no cérebro, na maioria das vezes com um curso fatal da doença se não for tratada.

Os sintomas clínicos da forma intestinal aguda da amebíase são cólicas abdominais dolorosas, com náuseas e diarreia maciça com sangue e muco nas fezes. A fase aguda da doença pode evoluir para uma condição crônica com diarreia ocasional que é alternada com prisão de ventre, dor abdominal, náuseas e vômitos. A literatura inclui descrições de portadores completamente assintomáticos dos cistos.

Para a identificação direta dos patógenos, os métodos de ensaio imunológicos sensíveis como o RIDASCREEN® ELISA com anticorpos específicos de adesinas são muito mais vantajosos do que a microscopia. A adesina específica da Entamoeba é uma proteína de superfície que se liga especificamente à galactose ou N-acetil-galactosamina dos enterócitos do hospedeiro e facilita a invasão subsequente pelo patógeno por lise destas células.

Cerca de 10 % de todos os casos de disenteria amebiana aguda são seguidos por complicações extra-intestinais, como abscessos no fígado ou infecção de outros órgãos. No caso de amebíase extra-intestinal é indicada a identificação de anticorpos por sorologia.

Este método torna o diagnóstico independente da avaliação subjetiva e é mais sensível na detecção das partes que não são mais morfologicamente identificáveis. Os títulos de anticorpos geralmente podem ser determinados ao mesmo tempo que começam os sinais e sintomas clínicos, e imediatamente após a identificação de anticorpos específicos faz com que seja possível a identificação do *E. histolytica*. Isso também oferece a possibilidade de diferenciação entre os níveis de titulação de

amebíase intestinal e extra-intestinal, o que é importante na escolha dos tratamentos.

3. Princípio do teste

O teste de RIDASCREEN® Entamoeba utiliza anticorpos específicos em um método do tipo sanduíche. A superfície da placa de micropoços é revestida com anticorpos específicos aos antígenos de *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar*. Usa-se uma pipeta para posicionar uma suspensão da amostra de fezes para ser examinada, bem como as amostras de controle no poço da placa de micropoços, juntamente com anticorpos contra Entamoeba biotinados (Conjugado 1) para incubação à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Depois de uma etapa de lavagem, o conjugado de estreptavidina poli-peroxidase (Conjugado 2) é adicionado e incubado novamente à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Se há antígenos contra Entamoeba em uma amostra, anticorpos imobilizados, o antígeno de Entamoeba e o anticorpo conjugado formam um complexo de sanduíche. Outra etapa de lavagem remove o conjugado de estreptavidina poli-peroxidase não ligado. Em amostras positivas, a adição de um substrato muda a enzima ligada, de uma solução incolor para uma solução azul. A adição de um reagente de parada muda a cor de azul para amarelo. A extinção é proporcional à concentração de antígenos de Entamoeba encontrados na amostra.

4. Reagentes fornecidos

Os reagentes no kit são suficientes para 96 determinações.

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

As substâncias perigosas são indicadas de acordo com as obrigatoriedades de marcação. Para mais detalhes, consulte as Folhas de Dados de Segurança (SDS) em www.r-biopharm.com.

5. Instruções de armazenamento

Todos os reagentes devem ser armazenados a 2 - 8 °C e podem ser usados até a data impressa na etiqueta. Armazenado a 2 - 8 °C, o tampão de lavagem diluído pode ser usado por, no máximo, 4 semanas. Deve-se evitar a contaminação microbiana. Após a data de expiração, a garantia da qualidade já não é válida. A bolsa de alumínio deve ser aberta com tesoura de forma que a vedação de grampo não seja rasgada. As tiras de micropoços que não forem necessárias devem ser recolocadas em uma bolsa de alumínio imediatamente e armazenadas a 2 - 8 °C.

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

6. Reagentes necessários, mas não fornecidos

6.1 Reagentes necessários

Os seguintes reagentes são necessários para realizar o RIDASCREEN® Entamoeba Test:

Reagentes
Água destilada ou deionizada

6.2 Necessary laboratory equipment

O seguinte equipamento é necessário para realizar o RIDASCREEN® Entamoeba Test:

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

7. Avisos e medidas preventivas para os usuários

Apenas para uso em diagnóstico *in vitro*.

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

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

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

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

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

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

8. Coleta e armazenamento de espécimes

Até o momento da utilização, armazene o material de teste a 2 - 8 °C. Se não for possível usar o material para um teste dentro de três dias, recomendamos a armazenagem a -20 °C ou menos. Evite congelar e descongelar a amostra repetidamente. Após a diluição da amostra de fezes no tampão de diluição de amostra 1:11, ela pode ser armazenada a 4 °C para uso dentro de 7 dias (Tabela 1).

Tabela 1: Armazenagem de espécimes

Amostra de fezes não diluídas		Amostra de fezes diluídas
2 - 8 °C	≤ - 20 °C	2 - 8 °C
≤ 3 dias	> 3 dias	≤ 7 dias

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

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

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

9. Realização do teste

9.1 Informações gerais

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

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

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

9.2 Preparação do tampão de lavagem

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

9.3 Preparação das amostras

Encha um tubo de ensaio com 1 ml de tampão de diluição de amostra RIDASCREEN® **Diluent | 1**. Use uma pipeta descartável (artigo no Z0001) para aspirar uma amostra fina de fezes (aprox. 100 µl) até um ponto logo acima da segunda marcação e adicione isto ao tampão no tubo de ensaio para fazer uma suspensão.

Para suspender uma amostra de fezes sólidas, utilize uma quantidade equivalente (aprox. 50 - 100 mg) da amostra, manuseando-a com uma espátula ou ansa de inoculação descartável.

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

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

Observação: Amostras de fezes diluídas em **Diluent | 1 podem ser usadas em outro RIDASCREEN® ELISA, desde que ele também utilize o **Diluent | 1**.**

9.4 Primeira incubação

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

9.5 Lavagem

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

Se você usa uma lavadora de microplacas ou um ELISA totalmente automatizado, certifique-se de que a máquina esteja ajustada corretamente; se necessário, solicite os ajustes do fabricante. Os aparelhos fornecidos pela R-Biopharm já estão programados com ajustes e protocolos de controle validados.

Para evitar o entupimento das agulhas de lavagem, entregue somente suspensões de fezes livres de partícula (consulte o Item 9.3., Preparação das amostras). Além disso, certifique-se de que todo o líquido seja aspirado durante cada etapa de lavagem.

9.6 Segunda incubação

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

9.7 Lavagem

Lave conforme o descrito no Item 9.5.

9.8 Terceira incubação

Encha todos os poços com 100 µl de substrato **Substrate**. Em seguida, incube a placa por 15 minutos no escuro à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Em seguida, coloque 50 µl de reagente de parada em todos os poços **Stop** a fim de parar a reação. Após misturar cuidadosamente, batendo levemente na lateral da placa, meça a extinção em **450 nm e comprimento de onda de referência de 620 nm.**

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

10. Controle de qualidade - indicação de instabilidade ou deterioração dos reagentes

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

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

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

11. Avaliação e interpretação

11.1. Cálculo do corte

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

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

11.2. Resultados do teste

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

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

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

12. Limitações do método

O teste RIDASCREEN® Entamoeba identifica os antígenos do *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar*. Não é possível associar o nível determinado de extinção à ocorrência ou gravidade dos sintomas clínicos. Os resultados obtidos sempre devem ser interpretados em conjunto com o quadro clínico.

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

Um resultado negativo não descarta a possibilidade de amebíase. Um resultado desse tipo pode ocorrer devido à excreção intermitente do patógeno ou à quantidade muito pequena de antígeno na amostra. Se o histórico do paciente respalda a suspeita de infecção por *Entamoeba histolytica*, deve-se repetir o exame com outra amostra de fezes. Se houver motivos para suspeitar da amebíase extra-intestinal, a suspeita pode ser confirmada pela identificação de anticorpos específicos para *Entamoeba histolytica* no soro (RIDASCREEN® E. histolytica IgG, Art. N°: K1721).

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

13. Características de desempenho

13.1 Sensibilidade analítica

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

Tabela 2: Resultados da sensibilidade analítica para o *Entamoeba histolytica* no RIDASCREEN® Entamoeba ELISA

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

13.2 Comparação com o produto concorrente

Amostras de fezes previamente diagnosticadas (10 Entamoeba positivas e 30 Entamoeba negativas) foram analisadas com o teste RIDASCREEN® Entamoeba e comparadas com o ELISA de um concorrente. Os resultados desse estudo são resumidos na Tabela 3.

Tabela 3: Comparação do RIDASCREEN® Entamoeba ELISA e um ELISA concorrente, utilizando amostras de fezes

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

Correspondência positiva: 94.7 %

Correspondência negativa: 98.4 %

Além disso, uma diluição em série foi produzida a partir de cepas certificadas de *E. histolytica* para um estudo comparativo do RIDASCREEN® Entamoeba ELISA com dois produtos concorrentes. Os resultados são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4: Comparação do RIDASCREEN® Entamoeba ELISA com dois ELISAs concorrentes, utilizando uma mistura de cepas de *Entamoeba histolytica*

<i>E. histolytica</i>	RIDASCREEN® Entamoeba MV [OD 450/620]	ELISA 1 MV [OD 450/620]	ELISA 2 MV [OD 450/620]
Cepa 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 +
Cepa 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 -
Cepa 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 Reatividade cruzada

Diversos micro-organismos patogênicos do trato intestinal foram examinados com o teste RIDASCREEN® Entamoeba e, com exceção do *Campylobacter coli*, não apresentaram reatividade cruzada. Esses estudos foram realizados com suspensões não diluídas de vírus ou bactérias que comprovadamente tinham concentrações de 10⁶ a 10⁹ organismos por ml. Os resultados desse estudo são resumidos na Tabela 5.

Tab. 5: Reatividade cruzada com micro-organismos patogênicos

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

13.4 Precisão

Para determinar a reprodutibilidade intraensaio, 40 réplicas dessas referências foram testadas, representando a faixa completa de medição, de negativo a altamente positivo. Os valores médios e os coeficientes de variação (VC) de três lotes dos kits foram determinados. Para a reprodutibilidade intraensaio, foram testadas referências de dez dias úteis diferentes em duplicadas, com duas execuções por dia. As medições foram determinadas por três técnicos e se referem a três lotes de kits. A reprodutibilidade entre os lotes foi determinada para todos os três lotes dos kits. Os resultados desse estudo são mostrados na Tabela 6.

Tab. 6: Reprodutibilidade e precisão do RIDASCREEN® Entamoeba ELISA

Referências		Intraensaio			Entre ensaios			Entre lotes
		Lote de kits 1	Lote de kits 2	Lote de kits 3	Lote de kits 1	Lote de kits 2	Lote de kits 3	Lote de kits 1-3
1	MV [OD 450/620]	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/d						

13.5 Substâncias interferentes

As substâncias da lista a seguir não apresentaram efeitos sobre os resultados do teste quando misturadas aos sobrenadantes das amostras de fezes positivas e negativas de Entamoeba nas concentrações descritas:

Mucinas	5,0 % p/p	Diclofenaco	0,1 % v/p
Sangue humano	5,0 % v/p	Ciclamato	1,3 % v/p
Pepto-Bismol	6,6 % v/p	Ácido esteárico/ácido palmítico	40 % p/p (mistura 1:1)
Loperamida	0,02 % p/p	Metronidazol	solução a 0,5 %

A possible dose effect relationship was investigated for barium sulfate (18.5 % p/p). This investigation of a serial dilution with barium sulfate, however, did not show a direct relationship between the concentration and the OD values. The only exception is the highest concentration that was tested, but it is even higher than the "worst case" concentration that was tested already in the first analysis (three times the daily dose). Interference due to barium sulfate can therefore be considered to be improbable.

14. Histórico de versões

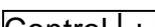
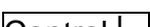
Número da versão	Capítulo e designação
2017-04-20	Versão anterior
2019-07-10	Revisão geral 4. Reagentes fornecidos 8. Coleta e armazenamento de espécimes 9.2 Preparação do tampão de lavagem 9.5 Lavagem 9.8 Terceira incubação 13.2 Comparação com o produto concorrente

15. Explicação dos símbolos

Símbolos gerais

	Para utilização em diagnóstico in vitro
	Respeitar as instruções de utilização
	Número do lote:
	Validade
	Armazenar em
	Número do artigo
	Número de testes
	Data de fabricação
	Fabricante

Símbolos específicos de teste

	Placa de micropoços
	Tampão de diluição da amostra
	Tampão de lavagem
	Controle positivo
	Controle negativo
	Conjugado 1
	Conjugado 2
	Substrato
	Reagente de parada

16. Referências

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).