

## RIDASCREEN® Entamoeba

**REF** C1701



## 1. Kullanım amacı

*In vitro* tanı amaçlı kullanım içindir. RIDASCREEN® Entamoeba, insan gaita örneklerinde *Entamoeba histolytica* ve *Entamoeba dispar*'ın kalitatif olarak belirlenmesine yönelik bir enzim immünolojik tahlilidir.

## 2. Testin özeti ve açıklaması

Tüm dünyada her yıl 500 milyon kadar insan *Entamoeba histolytica* ve *Entamoeba dispar* ile enfekte olmaktadır. Moleküler genetik analizleri, geleneksel tanısal yöntemlerle belirlenmiş ve *Entamoeba histolytica* olarak adlandırılmış olan bu protozoaların, farklılaştırılmayan bir morfolojiye sahip iki tür olduklarını göstermiştir. Biri patojenik türlerden *Entamoeba histolytica* ve diğeri de *Entamoeba dispar* olup mevcut bilgi düzeyinde patojenik değildir.

Amebiyaz klinik semptomları, parazitin bağırsak lümeninden kolonun mukoz membranlarını istilasıyla tetiklenir. Burada sık sık fagosit eritrositler içeren trofozoitler buluruz. Boyutları nedeniyle bu trofozoitler magna form olarak bilinirler. Bağırsak mukozasını istilanın sonuçları, diyare, dizanteri veya hatta amebom'dur. Yayılma sonrasında potansiyel komplikasyonlar arasında karaciğerde, akciğerlerde ve çok nadir vakalarda beyinde bile abseler olup hastalık tedavi edilmediğinde çoğunlukla ölümcül bir seyir izler.

Amebiyazın akut bağırsak formunun klinik semptomları, mide bulantısıyla birlikte ağrılı abdominal kramplar ve feçeste kan ve mukozayla birlikte büyük çaplı diyaredir. Hastalığın akut aşaması, kabızlık, abdominal ağrı, mide bulantısı ve kusmayla değişen ara sıra diyareli kronik bir duruma doğru gelişebilir. Literatür, kistlerin tamamen asemptomatik taşıyıcılarını bildirmektedir.

Patojenlerin doğrudan belirlenmesi için, adhezine-spesifik antikolar içeren RIDASCREEN® ELISA gibi hassas immünolojik test yöntemleri mikroskopiye göre çok daha avantajlıdır. Entamoeba'nın spesifik adezini, konakçının enterositlerinin galaktozuna veya N-asetil-galaktosaminine spesifik olarak bağlanan bir yüzey proteindir ve patojenin daha sonraki istilasını bu hücrelerin lizisleriyle kolaylaştırır. Tüm akut amebik dizanteri vakalarının yaklaşık % 10'unu, karaciğerde abse veya diğer organlarda enfeksiyon gibi bağırsak dışı komplikasyonlar izler. Antikorların serolojiyle belirlenmesi, bağırsak dışı amebiyaz durumunda endikedir.

Bu yöntem, tanıyı sübjektif değerlendirmeden bağımsız kılar ve morfolojik bakımdan artık belirlenebilir olmaktan çıkmış parçaları belirlemede daha hassastır. Antikor titrasyonları, genellikle klinik belirtilerin ve semptomların başlamasıyla aynı zamanda belirlenebilirler ve bunun hemen ardından spesifik antikoların belirlenmesi

*E. histolytica*'yı belirlemeyi olanaklı kılar. Bu ayrıca, tedavi seçiminde önemli olan bağırsak ve bağırsak dışı amebiyaz titrasyon düzeyleri arasında farklılaştırma yapma olanağını da sunar.

### 3. Test prensibi

RIDASCREEN® Entamoeba Test, spesifik antikoru sandviç tipi bir yöntemde kullanır. Mikro-kuyucuk plakasının kuyucuk yüzeyi, *Entamoeba histolytica* ve *Entamoeba dispar* antijenlerine karşı spesifik antikoruyla kaplanır. Oda sıcaklığında (20 - 25 °C) inkübasyon için, incelenen gaita örneğinin yanı sıra kontrol numunelerinin bir süspansiyonunu, mikro-kuyucuk plakasının kuyucuğuna, biyotinli anti-Entamoeba antikoruyla (Konjugat 1) birlikte yerleştirmek için bir pipet kullanılır. Bir yıkama adımından sonra, streptavidin poli-peroksidaz konjugatı (Konjugat 2) eklenir ve oda sıcaklığında (20 - 25 °C) inkübe edilir. Bir numunede Entamoeba antijenleri bulunduğunda, immobilize antikoru, Entamoeba antijeni ve konjuge antikor bir sandviç kompleksi oluştururlar. Başka bir yıkama adımı, bağlanmamış streptavidin poli-peroksidaz konjugatını uzaklaştırır. Substrat eklendikten sonra, test pozitifse, bağlanan enzim, mikro-kuyucuk plakasının kuyucuklarında daha önceki renksiz solüsyondan maviye renk değiştirir. Bir durdurma reaktifinin eklenmesi, rengi maviden sarıya değiştirir. Ekstinksiyon, numunede bulunan Entamoeba antijenlerinin konsantrasyonuyla orantılıdır.

#### 4. Sağlanan reaktifler

Kitte sağlanan reaktifler 96 belirleme için yeterlidir.

Plate	96 Test	Mikro-kuyucuk plakası, strip tutucuda 12 mikro-kuyucuk stripi (bunlar bölünebilirdir); <i>Entamoeba histolytica</i> ve <i>Entamoeba dispar</i> 'a karşı spesifik monoklonal antikolarıyla kaplı (fare)
Diluent   1	100 ml	Örnek seyreltme tamponu, protein-tamponlu NaCl solüsyonu; kullanıma hazır, mavi renkli
Wash buffer	100 ml	Yıkama tamponu, fosfat tamponlu NaCl solüsyonu (10-kat konsantre); % 0,1 timerosal içerir
Control   +	2 ml	İnaktive Entamoeba antijeni; kullanıma hazır
Control   -	2 ml	Negatif kontrol (örnek seyreltme tamponu); kullanıma hazır
Conjugate   1	13 ml	Stabilize protein solüsyonunda Entamoeba antijenlerine karşı biyotin-konjuge antikolar (fare); kullanıma hazır, yeşil renkte
Conjugate   2	13 ml	Stabilize protein solüsyonunda streptavidin poli-peroksidaz konjugat; kullanıma hazır; turuncu renkte
Substrate	13 ml	Hidrojen peroksit/TMB; kullanıma hazır
Stop	12 ml	Durdurma reaktifi; 1 N sülfürik asit; kullanıma hazır

Tehlikeli maddeler, etiketleme yükümlülüklerine göre belirtilmiştir. Daha fazla ayrıntı için, [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com) adresindeki Güvenlik Veri Formlarına (SDS) başvurun.

#### 5. Saklama talimatları

Tüm reaktifler 2 - 8 °C'de saklanmalıdır ve etikette basılı tarihe kadar kullanılabilirler. Seyreltilmiş yıkama tamponu 2 - 8 °C'de saklanmış olması şartıyla, maksimum 4 hafta boyunca kullanılabilir. Mikrobiyal kontaminasyon önlenmelidir. Son kullanma tarihinden sonra, kalite garantisi artık geçerli değildir.

Alüminyum torba, klip mühür yırtılmayacak şekilde makasla açılmalıdır. Gerekli olmayan mikro-kuyucuk stripleri alüminyum torbaya geri konulmalı ve hemen 2 - 8 °C'de saklanmalıdır.

Renksiz substrat, ayrışmasını veya oto-oksidasyon nedeniyle maviye dönmesini önlemek için doğrudan ışıktan korunmalıdır. Substrat maviye döndükten sonra kullanılmamalıdır.

## 6. Gerekli olan ama sağlanmayan reaktifler

### 6.1 Gerekli reaktifler

Aşağıdaki reaktifler RIDASCREEN® Entamoeba testini gerçekleştirmek için gereklidir:

Reaktifler
Distile veya deiyonize su

### 6.2 Gerekli laboratuvar ekipmanları

Aşağıdaki ekipmanlar RIDASCREEN® Entamoeba testini gerçekleştirmek için gereklidir:

Ekipman
Test tüpleri
Tek kullanımlık pipetler (Artikel no.: Z0001)
Vorteks karıştırıcı (opsiyonel, bkz. 9.3.)
50 - 100 µl ve 1 ml hacim için mikro-pipet
Ölçüm silindiri (1.000 ml)
Zamanlayıcı
Mikro-titrasyon plakaları için yıkama cihazı veya çok kanallı pipet (300 µl)
Mikro-titrasyon plakaları için fotometre (450 nm, referans filtresi 620-650 nm)
Filtre kağıdı (laboratuvar havluları)

## 7. Kullanıcılar için uyarılar ve önlemler

Yalnızca *in vitro* tanı amaçlı kullanım içindir.

Bu test, sadece eğitimli laboratuvar personeli tarafından yapılmalıdır. Tıbbi laboratuvarlarda çalışma yönergelerine uyulmalıdır. Bu test için kullanıcı talimatlarına her zaman kesinlikle uyun. Numuneler veya reaktifler, ağızdan pipetle alınmamalıdır ve yaralı cilt veya mukoz membranlarla temas etmeleri önlenmelidir. Numuneleri kullanırken kişisel güvenlik ekipmanları (uygun eldivenler, laboratuvar önlüğü, güvenlik gözlükleri) kullanın ve testi bitirdikten sonra ellerinizi yıkayın. Numunelerin işlenmekte olduğu alanlarda sigara içmeyin, bir şey yemeyin veya içmeyin. Daha fazla ayrıntı için, [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com) adresindeki Güvenlik Veri Formlarına (SDS) başvurun.

Kit, inaktive Entamoeba antijeni bulunan bir pozitif kontrol içermektedir. Potansiyel olarak enfeksiyöz materyal olarak işlem görmeli ve tıpkı hasta numuneleri gibi ulusal güvenlik yönetmeliklerine uygun olarak kullanılmalıdır.

Yıkama tamponu koruyucu olarak % 0,1 timerosal içerir. Bu maddenin, cilt veya mukoza zarlarıyla temas etmesine izin verilmemelidir.

Kullanıldıktan sonra tüm reaktiflerin ve materyallerin uygun ve sorumlu bir şekilde bertaraf edilmelerini sağlayın. Bertaraf için, lütfen ulusal yönetmeliklere uyun!

## 8. Numuneleri toplama ve saklama

Kullanılana kadar materyali 2 - 8 °C'de saklayın. Materyal bir testte üç gün içinde kullanılamayacaksa -20 °C'de veya daha soğukta saklanmasını öneririz. Numuneyi tekrar tekrar dondurmaktan ve çözmekten kaçının. **Bir gaita örneği bir örnek seyreltme tamponunda 1:11 oranında seyreltikten sonra, yedi gün içinde kullanılmak üzere 2 - 8 °C'de saklanabilir (Tab. 1).**

**Tab. 1: Numune saklama**

Seyreltilmemiş gaita numunesi		Seyreltilmiş numune
2 - 8 °C	≤ - 20 °C	2 - 8 °C
≤ 3 gün	> 3 gün	≤ 7 gün

Gaita örnekleri ve rektal smear'lar, koruyuculu nakil ortam maddesi, hayvan serası, metal iyonları, oksitleyici ajanlar veya deterjanlar içeren nakil kaplarında toplanmamalıdır, çünkü bunlar RIDASCREEN® Entamoeba Test'le etkileşime girebilirler. Rektal smear'lar kullanılıyorsa, gaita materyali hacminin test için yeterli olduğundan (yaklaşık 100 mg) emin olun.

Temas izlemesi, asemptomatik taşıyıcıları belirleyebilmek amacıyla, klinik semptomlar göstermeyen temas kişilerinden alınmış gaita örneklerini test etmeyi içermelidir.

## 9. Test prosedürü

### 9.1 Genel bilgiler

Tüm reaktifler ve mikro-kuyucuk **Plate** kullanılmadan önce oda sıcaklığına (20 - 25 °C) getirilmelidir. Mikro-kuyucuk stripleri, oda sıcaklığına ulaşana kadar alüminyum torbadan çıkarılmamalıdır. Reaktifler kullanılmadan hemen önce iyice karıştırılmalıdır. Kullandıktan sonra, mikro-kuyucuk stripleri (mühürlü torbalara yerleştirilmiş) ve reaktifler 2 - 8 °C'de saklanmalıdır. Mikro-kuyucuk stripleri kullanıldıktan sonra tekrar kullanılmamalıdır. Reaktifler ve mikro-kuyucuk stripleri, ambalajları hasarlıysa veya flakonlar sızıntılıysa kullanılmamalıdır.

Çapraz kontaminasyonu önlemek için, örneklerin kit bileşenleriyle doğrudan temas etmesi önlenmelidir.

Test doğrudan güneş ışığında gerçekleştirilmemelidir. Buharlaştırma kayıplarını önlemek için mikro-kuyucuk plakasını örtmeyi veya plastik örtüyle mühürlemeyi öneririz.

## 9.2 Yıkama tamponunu hazırlama

1 parça konsantre yıkama tamponunu **Wash buffer** 9 parça distile suyla karıştırın. Konsantrede mevcut olabilecek kristaller, 37 °C'de bir su banyosunda ısıtarak önceden çözülmelidir.

## 9.3 Numuneleri hazırlama

Etiketli bir test tüpünü 1 ml RIDASCREEN® örnek seyreltme tamponu **Diluent | 1** ile doldurun. İnce bir gaita (yaklaşık 100 µl) örneğini ikinci çıkıntının hemen üzerine aspire etmek için bir tek kullanımlık pipet (Artikel no. Z0001) kullanın ve bunu bir süspansiyon oluşturmak için test tüpündeki tampona ekleyin. Bir katı gaita örneğini süspansiyon etmek için, bir spatula veya tek kullanımlık özeyele eşit miktarda (yaklaşık 50 - 100 mg) örnek kullanın. Gaita süspansiyonunu, tek kullanımlık bir pipetle içeri aspirasyon ve dışarı ejeksiyonla veya alternatif olarak bir Vorteks karıştırıcıda karıştırarak homojenize edin.

Süspansiyonu, kaba gaita partiküllerinin çökmesi için kısa bir süre bekletin; bu berraklaşmış gaita süspansiyonu üst fazı, testte doğrudan kullanılabilir. Test prosedürü bir otomatik ELISA sisteminde gerçekleştirilirse, üst fazın partikülsüz olması gerekir. Bu durumda, örneğin 2.500 G'de 5 dakika boyunca santrifüje alınması önerilir.

**Not:** **Diluent | 1** içerisinde seyreltilmiş gaita örnekleri, yine **Diluent | 1** kullanılmış olması şartıyla diğer herhangi bir RIDASCREEN® ELISA'da kullanılabilir.

## 9.4 İlk inkübasyon

Strip tutucuya yeterli sayıda kuyucuk ekledikten sonra, 100 µl pozitif **Control |+**, negatif **Control |-** veya gaita örneği süspansiyonunu kuyucuklara ekleyin. Daha sonra, 100 µl biyotin-konjuge antikor **Conjugate | 1** ekleyin ve karıştırın (plakanın kenarına hafifçe vurarak); ardından, oda sıcaklığında (20 - 25 °C) 30 dakika boyunca inkübe edin.

## 9.5 Yıkama

Doğru sonuçlara ulaşmak için dikkatli yıkama önemlidir ve bu nedenle, talimatlara kesin olarak uyararak hareket edin. Kuyucuklardaki inkübe edilmiş madde, yerel yönetmeliklere uygun bertaraf için bir atık kabına boşaltılmalıdır. Bundan sonra, kalıntı nemi uzaklaştırmak için plakayı absorban kağıdın üzerine vurun. Ardından her seferinde 300 µl yıkama tamponunu **Wash buffer** kullanarak plakayı beş kez yıkayın. Her yıkamadan sonra, absorban kağıdın halen kuru ve kullanılmamış olan bir bölümüne vurarak kuyucukların tamamen boşaldıklarından emin olun. Bir mikro-kuyucuk yıkayıcı veya tam otomatik ELISA kullanıyorsanız, makinenin doğru şekilde ayarlandığından emin olun; gerekirse üreticiden ayarları isteyin.

R-Biopharm tarafından teslim edilen cihazlar zaten doğrulanmış ayarlarla ve iş protokolleriyle programlanmışlardır.

Yıkama iğnelerini tıkamayı önlemek için, yalnızca partikül içermeyen gaita süspansiyonları dağıtılmalıdır (bkz. Madde 9.3., Numuneleri hazırlama). Ayrıca her yıkama adımı sırasında tüm sıvının aspire edildiğinden emin olun.

### 9.6 İkinci inkübasyon

Kuyucuklara 100 µl streptavidin poli-peroksidaz konjugatı  doldurmak için bir pipet kullanın, ardından oda sıcaklığında (20 - 25 °C) 15 dakika boyunca inkübe edin.

### 9.7 Yıkama

Madde 9.5'te açıklandığı gibi yıkayın.

### 9.8 Üçüncü inkübasyon

Tüm kuyucukları 100 µl substratla  doldurun. Ardından plakayı oda sıcaklığında (20 - 25 °C), karanlıkta 15 dakika boyunca inkübe edin. Daha sonra, reaksiyonu durdurmak için tüm kuyucuklara 50 µl durdurma reaktifi  doldurun. Plakanın kenarına hafifçe vurarak dikkatle karıştırdıktan sonra, ekstinksiyonu **450 nm ve 620 nm referans dalga boylarında** ölçün.

**Not: Yüksek pozitiflikteki hasta örnekleri, substratın siyah renkli çökmesine neden olabilir.**

## 10. Kalite kontrol – Reaktif instabilitesi veya bozulması göstergesi

Kalite kontrol amacıyla, reaktiflerin stabil olduklarından ve testin doğru şekilde gerçekleştirildiğinden emin olmak için pozitif ve negatif kontroller, testin gerçekleştirildiği her sefer kullanılmalıdır. Negatif kontrol için ekstinksiyon hızı (O.D.) 450 nm'de 0,2'den düşük (450/620 nm'de 0,160'tan düşük) ve pozitif kontrol için ölçülen değer 450 nm'de veya 450/620 nm'de 0,8'den büyükse test doğru şekilde gerçekleştirilmiştir. Negatif kontrol için 0,2'den (0,160) büyük bir değer, yıkamanın yetersiz olduğunu gösteriyor olabilir. Gerekli değerlerden sapma, tıpkı kuyucuklara doldurulmadan önce renksiz olan substratın bulanık veya mavi renkli olması gibi, reaktiflerin son kullanma tarihlerinin geçtiğini gösteriyor olabilir. Gerekli değerlere ulaşılmıyorsa, test tekrarlanmadan önce aşağıdaki hususlar kontrol edilmelidir:

- Kullanılan reaktiflerin son kullanma tarihi
- Kullanılan ekipmanın fonksiyonelliği (örn. kalibrasyon)
- Doğru test prosedürü
- Kontaminasyon veya sızıntılar için kit bileşenlerinin gözle kontrolü; maviye dönen bir substrat solüsyonu kullanılmamalıdır.

Test tekrarlandıktan sonra koşullar yine karşılanmıyorsa, lütfen üreticiye veya yerel R-Biopharm distribütörünüze başvurun.



## 11. Değerlendirme ve yorumlama

### 11.1. Kesmeyi hesaplama

Kesmeyi hesaplamak için, negatif kontrol için ölçülen ekstinksiyona 0,15 ekstinksiyon birimi eklenir.

$$\text{Kesme} = \text{negatif kontrol için ekstinksiyon} + 0,15$$

### 11.2. Test sonuçları

Ekstinksiyon hızı, hesaplanan kesme değerinden % 10 daha yüksekse, numunenin değerlendirmesi pozitifdir.

Ekstinksiyon hızı, kesme değerinin % 10 altı ila % 10 üstü arasında değişiyorsa, numunenin değerlendirmesi marjinaldir. Yeni bir gaita örneğiyle tekrarlanan inceleme yine gri bölgeye düşüyorsa, örneğin değerlendirmesi negatifdir.

Ekstinksiyonları, hesaplanan kesme değerinden % 10 daha yüksek numunelerin negatif görülmeleri gerekir.

## 12. Yöntemin sınırlamaları

RIDASCREEN® Entamoeba Test, *Entamoeba histolytica* ve *Entamoeba dispar* antijenlerini belirler. Belirlenen ekstinksiyon düzeyini klinik semptomların ortaya çıkışıyla veya şiddetiyle ilişkilendirmek olanaklı değildir. Elde edilen sonuçlar, her zaman klinik belirtiler ve semptomlarla birlikte yorumlanmalıdır.

Bir pozitif sonuç, başka enfeksiyöz patojenlerin varlığı olasılığını ortadan kaldırmaz.

Bir negatif sonuç, amebiyaz olasılığını ortadan kaldırmaz. Böyle bir sonuç, patojenin arada ekskrete edilmiş olmasından veya örnekteki antijen miktarının çok küçük olmasından kaynaklanıyor olabilir. Hastanın geçmişi bir *Entamoeba histolytica* enfeksiyonu kuşkusunu destekliyorsa, inceleme başka bir gaita örneğiyle tekrarlanmalıdır. Bağırsak dışında amebiyazdan kuşkulanmak için bir neden varsa, bu kuşku, serumda *Entamoeba histolytica*'ya spesifik antikorların belirlenmesiyle doğrulanabilir (RIDASCREEN® E. histolytica IgG, Art. No.: K1721).

Bir marjinal sonuç, antijenlerin gaita örneğinde homojen olmayan dağılımlarından kaynaklanıyor olabilir. Bu durumda, inceleme ya aynı örnekten ikinci bir süspansiyonla tekrarlanmalı veya başka bir gaita örneği istenmelidir.

## 13. Performans özellikleri

### 13.1 Analitik hassasiyet

RIDASCREEN® Entamoeba ELISA'nın analitik hassasiyetini belirlemek için, bilinen bir Entamoeba kist miktarına sahip bir örnekten bir lineer seyreltme serisi üretilmiş ve ardından üçlü olarak ölçülmüştür. Saptama sınırı (LoD), tüm replikatlarda pozitif

olarak değerlendirilen en son konsantrasyondur. O çalışmanın sonuçları Tablo 2'de gösterilmektedir.

**Tab. 2:** RIDASCREEN® Entamoeba ELISA'da *Entamoeba histolytica* için analitik hassasiyet sonuçları

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

### 13.2 Rakip ürünle karşılaştırma

Daha önce tanı konmuş gaita örnekleri (10 Entamoeba pozitif ve 30 Entamoeba negatif) RIDASCREEN® Entamoeba Test'le analiz edilmiş ve bir rakibin ELISA cihazıyla karşılaştırılmıştır. O çalışmanın sonuçları Tablo 3'te özetlenmektedir.

**Tab. 3:** RIDASCREEN® Entamoeba ELISA ve bir rakip ELISA'nın gaita örnekleri kullanılarak karşılaştırılması

		Rakip	
		pozitif	negatif
RIDASCREEN® Entamoeba	pozitif	9	1
	negatif	0	30

Pozitif uyum: % 94,7      negatif uyum: % 98,4

Ayrıca RIDASCREEN® Entamoeba ELISA'nın iki rakip ürüne karşı bir karşılaştırma çalışması yürütmek için sertifikalı *E. Histolytica* suşlarından bir seri seyrelti üretilmiştir. Sonuçlar Tablo 4'te gösterilmektedir.

**Tab. 4:** Bir *Entamoeba histolytica* suşları karışımı kullanarak RIDASCREEN® Entamoeba ELISA'nın iki rakip ELISA'yla karşılaştırması

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

OD450/620 ≥ 1,5: +++

OD450/620 0,5 - 1,5: ++

OD450/620 < 0,5: +

OD450/620 < Kesme: -

### 13.3 Çapraz reaktivite

Bağırsak yollarından çeşitli patojenik mikro-organizmalar RIDASCREEN® Entamoeba ELISA ile incelenmiş ve *Campylobacter coli* hariç hiçbir çapraz reaktivite göstermemişlerdir. Bu çalışmalar, ml başına 10<sup>6</sup> ila 10<sup>9</sup> organizma konsantrasyonlarına sahip oldukları gösterilen seyreltilmemiş bakteri veya virüs süspansiyonlarla yapılmıştır. O çalışmanın sonuçları Tablo 5'te özetlenmektedir.

**Tab. 5:** Patojenik mikro-organizmalarla çapraz reaktivite

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

### 13.4 Kesinlik

Tahlil içi yeniden üretilebilirliği belirlemek için, bu referansların negatiften yüksek pozitif kadar tüm ölçüm aralığını temsil eden 40 replikatı tahlil edilmiştir. Ortalama değerler ve varyasyon katsayıları (VC) kitlerin üç lotu için belirlenmiştir. Tahlil arası yeniden üretilebilirlik için, on farklı çalışma gününden referanslar, günde iki çalışma olmak üzere ikili olarak tahlil edilmiştir. Ölçümler kitlerin üç lotu için üç teknisyen tarafından belirlenmiştir. Lot arası yeniden üretilebilirlik, kitlerin üç lotunun tümü için belirlenmiştir. O çalışmanın sonuçları Tablo 6'da gösterilmektedir.

**Tab. 6:** RIDASCREEN® Entamoeba ELISA yeniden üretilebilirliği ve kesinliği

Referans	Tahlil içi			Tahlil arası			Lot arası	
	Kit Lotu 1	Kit Lotu 2	Kit Lotu 3	Kit Lotu 1	Kit Lotu 2	Kit Lotu 3	Kit Lotu 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 (%)	yok	yok	yok	yok	yok	yok	yok

### 13.5 Etkileşen maddeler

Aşağıdaki madde listesi, Entamoeba pozitif ve Entamoeba negatif gaita örneklerinin üst fazlarıyla belirtilen konsantrasyonlarda karıştırıldıklarında test sonuçları üzerinde hiçbir etki göstermemişlerdir:

Müsin	% 5,0 ağırlık/ağırlık	Diklofenak	% 0,1 hacim/ağırlık
İnsan kanı	% 5,0 hacim/ağırlık	Siklamat	% 1,3 hacim/ağırlık
Pepto-Bismol	% 6,6 hacim/ağırlık	Stearik asit / palmitinik asit	% 40 ağırlık/ağırlık (1:1)
Loperamid	% 0,02 ağırlık/ağırlık	Metronidazol	% 0,5 solüsyon










Bir olası doz etki ilişkisi baryum sülfat (% 18,5 ağırlık/ağırlık) için araştırılmıştır. Ancak baryum sülfatla bir seri seyreltme yapılan bu araştırma, konsantrasyon ve OD değerleri arasında doğrudan bir ilişki bulunduğunu göstermemiştir. Tek istisna, test edilmiş olan en yüksek konsantrasyondur, fakat bu, zaten ilk analizde test edilmiş olan "en kötü durum" konsantrasyonundan (günlük dozun üç katı) daha da yüksekti. Dolayısıyla, baryum sülfat nedeniyle etkileşim olasılık dışı kabul edilebilir.

### 14. Sürüm geçmişi


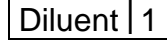
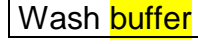
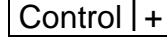

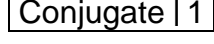
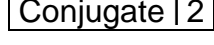
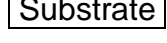

Sürüm numarası	Bölüm ve adlandırma
2017-04-20	Önceki sürüm
2019-07-10	Genel revizyon 4. Sağlanan reaktifler 8. Numuneleri toplama ve saklama 9.2 Yıkama tamponunu hazırlama 9.5 Yıkama 9.8 Üçüncü inkübasyon 13.2 Rakip ürünle karşılaştırma

## 15. Simgelerin açıklamaları

### Genel simgeler

	İn vitro tanı amaçlı kullanım için
	Kullanma talimatlarına bakın
	Lot numarası
	Son kullanma tarihi
	Saklama koşulu
	Artikel numarası
	Test sayısı
	Üretim tarihi
	Üretici firma

### Teste Özel Simgeler

	Mikro-titrasyon plakası
	Örnek seyreltme tamponu
	Yıkama tamponu
	Pozitif kontrol
	Negatif kontrol
	Konjugat 1
	Konjugat 2
	Substrat
	Durdurma reaktifi

## 16. Referanslar

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).