

RIDASCREEN® Entamoeba

REF C1701



1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Le test RIDASCREEN® Entamoeba est un dosage immunoenzymatique destiné à l'identification qualitative de *Entamoeba histolytica* et de *Entamoeba dispar* dans des échantillons de selles humaines.

2. Résumé et explication du test

Chaque année, près de 500 millions de personnes sont infectées par *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar* dans le monde entier. Des analyses de génétique moléculaire ont démontré que ces protozoaires, identifiés par des méthodes de diagnostic classiques comme des *Entamoeba histolytica* sont en effet deux espèces dont les morphologies ne peuvent pas être différenciées. L'une est l'espèce pathogène *Entamoeba histolytica* et l'autre *Entamoeba dispar*, qui, en l'état actuel des connaissances, n'est pas pathogène.

Les symptômes cliniques de l'amibiase sont déclenchés par l'invasion du parasite de la muqueuse du côlon depuis la lumière de l'intestin. C'est dans la muqueuse que l'on trouve souvent des trophozoïtes avec des érythrocytes phagocytés. Ces trophozoïtes portent le nom de forme « magna » en raison de leur taille. Les résultats de l'invasion de la muqueuse intestinale sont diarrhée, dysenterie, voir amoebome. Après la dissémination, les complications possibles sont la formation d'abcès dans le foie, les poumons et même, dans de très rares cas, dans le cerveau, entraînant le plus souvent la mort en l'absence de tout traitement.

Les symptômes cliniques de la forme intestinale aiguë de l'amibiase sont des crampes abdominales douloureuses accompagnées de nausée et de diarrhée massive, avec présence de sang et de mucus dans les selles. Le stade aigu de la maladie peut devenir chronique avec une diarrhée occasionnelle alternant avec constipation, douleur abdominale, nausée et vomissements. On trouve dans la littérature des descriptions de porteurs de kystes entièrement asymptomatiques. Les méthodes faisant appel à des tests immunologiques sensibles comme le test RIDASCREEN® ELISA avec des anticorps ciblant spécifiquement l'adhésine sont bien plus intéressantes que la microscopie pour l'identification directe des agents pathogènes. L'adhésine spécifique d'Entamoeba est une protéine de surface qui se lie spécifiquement au galactose ou à la Nacétyl-galactosamine des entérocytes du hôte et facilite l'invasion ultérieure par l'agent pathogène par une lyse de ces cellules.

Environ 10 % de tous les cas de dysenteries aiguës à amibes sont sujets à des complications extra-intestinales comme la présence d'abcès dans le foie ou l'infection d'autres organes. L'identification d'anticorps par la sérologie est indiquée dans les cas d'amibiase extraintestinale.

Cette méthode rend le diagnostic indépendant d'une évaluation subjective et est plus sensible pour la détection de parties qui ne sont plus identifiables du point de vue morphologique. Les concentrations des anticorps peuvent être généralement déterminées en même temps qu'apparaissent les signes et symptômes cliniques ;

l'identification immédiate des anticorps spécifiques qui s'en suit permet d'identifier l'espèce *E. histolytica*. Cela permet aussi de faire la différence entre les niveaux de concentration des amibes dans et hors de l'intestin, paramètre qui est important dans le choix de l'option thérapeutique.

3. Principe du test

Le test RIDASCREEN® Entamoeba utilise des anticorps spécifiques en appliquant une méthode de type sandwich. La surface des puits de la microplaque est revêtue d'anticorps spécifiques aux antigènes de *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar*. Une suspension de l'échantillon de selles à examiner ainsi que des contrôles sont pipetés ensemble avec des anticorps anti-Entamoeba biotinylés (conjugué 1) dans le puits de la microplaque, puis sont mis à incuber à température ambiante (20 à 25 °C). Après une étape de lavage, le conjugué polyperoxydase-streptavidine (conjugué 2) est ajouté et de nouveau mis à incuber à température ambiante (20 à 25 °C). Si des antigènes d'Entamoeba sont présents dans l'échantillon de selles, les anticorps immobilisés, l'antigène d'Entamoeba et l'anticorps conjugué forment un complexe sandwich. Le conjugué polyperoxydase-streptavidine non lié est éliminé au cours d'une autre étape de lavage. Dans les échantillons positifs, l'ajout d'un substrat modifie l'enzyme liée dans la solution incolore qui vire au bleu. L'ajout d'un réactif d'arrêt fait virer la couleur du bleu au jaune. L'extinction est proportionnelle à la concentration d'antigènes d'Entamoeba présents dans l'échantillon.

4. Contenu du paquet

Les réactifs fournis dans la trousse permettent de faire 96 déterminations.

Plate	96	Microplaque, 12 barrettes à micropuits (sécables) sur le support, revêtue d'anticorps monoclonaux (souris) ciblant spécifiquement <i>Entamoeba histolytica</i> et <i>Entamoeba dispar</i>
Diluent 1	100 ml	Tampon de dilution d'échantillon, solution de NaCl tamponnée à la protéine, prêt à l'emploi, de couleur bleue
Wash buffer	100 ml	Tampon de lavage, solution de NaCl tamponnée au phosphate (concentrée 10 fois), contient 0,1 % de thimérosal
Control +	2 ml	Antigène d'Entamoeba inactivé, prêt à l'emploi
Control -	2 ml	Contrôle négatif (tampon de dilution d'échantillon), prêt à l'emploi
Conjugate 1	13 ml	Anticorps (souris) conjugués à la biotine ciblant les antigènes d'Entamoeba dans une solution protéique stabilisée, prêts à l'emploi, de couleur verte
Conjugate 2	13 ml	Conjugué polyperoxydase-streptavidine dans une solution protéique stabilisée, prêt à l'emploi, de couleur orange
Substrate	13 ml	Peroxyde d'hydrogène/TMB, prêt à l'emploi
Stop	12 ml	Réactif d'arrêt, acide sulfurique 1 N, prêt à l'emploi

Les substances dangereuses sont signalées conformément aux dispositions d'étiquetage obligatoires. Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) à l'adresse www.r-biopharm.com.

5. Instructions de conservation des réactifs

Tous les réactifs doivent être entreposés entre 2 et 8 °C et peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Le tampon de lavage dilué doit être conservé entre 2 et 8 °C pendant 4 semaines maximum. La contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.

Le sachet en aluminium doit être ouvert à l'aide de ciseaux sans déchirer le joint d'étanchéité. Les barrettes à micropuits qui ne sont pas nécessaires doivent être remises immédiatement dans le sachet en aluminium et conservées entre 2 et 8 °C.

Le substrat incolore doit également être protégé de la lumière directe pour éviter qu'il ne se décompose ou ne bleuisse sous l'effet d'une auto-oxydation. Lorsque le substrat est bleu, il ne doit pas être utilisé.

6. Réactifs requis, mais non fournis

6.1 Réactifs nécessaires

Les réactifs suivants sont nécessaires pour exécuter le test RIDASCREEN® Entamoeba:

Réactifs
Eau distillée ou désionisée

6.2 Matériel de laboratoire nécessaire

Le matériel suivant est nécessaire pour exécuter le test RIDASCREEN® Entamoeba:

Matériel
Tubes à essai
Pipettes à usage unique (réf. : Z0001)
Agitateur-mélangeur vortex (facultatif, voir rubrique 9.3.)
Micropipettes pour volumes de 50 à 100 µl et 1 ml
Éprouvette graduée (1 000 ml)
Chronomètre
Appareil de lavage pour microplaques ou pipettes multicanaux (300 µl)
Photomètre pour microplaques (450 nm et filtre de référence à 620-650 nm)
Papier filtre (serviettes de laboratoire)

7. Mesures de précaution

Uniquement pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test ne doit être réalisé que par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre.

Les échantillons ou réactifs ne doivent pas être pipetés à la bouche et tout contact avec une peau ou des membranes muqueuses lésées doit être évité. Lors de la manipulation des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés.

Pour en savoir plus, consulter la Fiche de données de sécurité (FDS) à l'adresse www.r-biopharm.com.

La trousse comprend un contrôle positif qui contient l'antigène inactivé d'Entamoeba. Ce contrôle doit être traité comme du matériel potentiellement infectieux et manipulé conformément aux règlements de sécurité nationaux, de la même manière que les échantillons de patients.

Le tampon de lavage contient du thimérosal à 0,1 % en tant que conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Après utilisation, veiller à mettre au rebut tous les réactifs et matériels d'une manière adéquate et responsable. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux!

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Avant utilisation, entreposer le matériel de test entre 2 et 8 °C. S'il n'est pas possible d'effectuer le test en l'espace de trois jours, il est préconisé de conserver le matériel à une température inférieure ou égale à -20 °C. Éviter de congeler et décongeler les échantillons plusieurs fois.

Until it is used, store the test material at 2 - 8 °C. If the material cannot be used for a test within three days, we recommend storage at -20 °C or colder. Avoid freezing and thawing the specimen repeatedly. **Après dilution d'un échantillon de selles dans un tampon de dilution d'échantillon à 1:11, l'échantillon peut être conservé à 2 - 8 °C pour être utilisé dans les 7 jours qui suivent (tableau 1)**

Tableau 1: Conservation des échantillons

Échantillon de selles non dilué		Échantillon de selles dilué
2 - 8 °C	≤ - 20 °C	2 - 8 °C
≤ 3 jours	> 3 jours	≤ 7 jours

Les échantillons de selles et les frottis rectaux ne doivent pas être recueillis dans des conteneurs de transport renfermant un milieu de transport et des conservateurs, du sérum animal, des ions métalliques, des agents oxydants ou des détergents, car ces substances peuvent interférer avec le test RIDASCREEN® Entamoeba.

Lorsque des frottis rectaux sont utilisés, il faut veiller à disposer d'une quantité nécessaire de selles pour effectuer le test (env. 100 mg).

La recherche des contacts doit inclure des échantillons de selles provenant des personnes ayant été en contact qui ne présentent pas de symptômes cliniques, afin d'identifier des porteurs asymptomatiques.

9. Réalisation du test

9.1 Informations générales

Tous les réactifs et la microplaque **Plate** doivent être ramenés à température ambiante (20 à 25 °C) avant utilisation. Les barrettes à micropuits ne doivent pas être retirées du sachet en aluminium avant d'avoir atteint la température ambiante.

Les réactifs doivent être bien mélangés immédiatement avant leur utilisation. Après utilisation, les barrettes à micropuits (placées dans des sachets fermés hermétiquement) et les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8 °C. Une fois utilisées, les barrettes à micropuits ne doivent pas être réutilisées. Les réactifs et les barrettes à micropuits ne doivent pas être utilisés si l'emballage est endommagé ou si les flacons fuient.

Pour éviter toute contamination croisée, les échantillons ne doivent pas entrer en contact direct avec les composants de la trousse.

Le test ne doit pas être réalisé à la lumière directe du soleil. Nous recommandons de couvrir la microplaque ou de placer un film plastique dessus pour éviter toute perte par évaporation.

9.2 Préparation du tampon de lavage

Mélanger 1 volume de concentré de tampon de lavage **Wash buffer** avec 9 volumes d'eau distillée. Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être dissouts au préalable, en les réchauffant dans un bain d'eau à 37 °C.

9.3 Préparation des échantillons

Remplir un tube à essai marqué avec 1 ml de tampon de dilution des échantillons **Diluent | 1** de RIDASCREEN®. Aspirer un échantillon de selles liquides (environ 100 µl) au moyen d'une pipette à usage unique (réf. Z0001) jusqu'au-dessus du deuxième repère et ajouter au tampon du tube à essai pour obtenir une suspension. Pour obtenir une suspension avec des selles dures, ajouter une quantité équivalente de selles (environ 50 à 100 mg) de l'échantillon, prélevée à l'aide d'une spatule ou d'une anse de prélèvement à usage unique.

Homogénéiser la suspension de selles par aspiration, puis éjection avec une pipette à usage unique ou par mélange dans un agitateur-mélangeur vortex.

Laisser la suspension reposer pendant une courte période pour laisser aux particules grossières de selles le temps de se déposer ; le liquide clair surnageant la suspension de selles peut être directement utilisé pour le test. Si la procédure de test est effectuée dans un automate ELISA, ce liquide surnageant doit être dépourvu de particules. Dans ce cas, une centrifugation à 2 500 G pendant 5 minutes est recommandée.

Remarque: Les échantillons de selles diluées dans le **Diluent | 1 peuvent être utilisés par tout autre test RIDASCREEN® ELISA, à condition que celui-ci utilise aussi le **Diluent | 1**.**

9.4 Première incubation

Après avoir rempli une quantité suffisante de puits dans le support, ajouter 100 µl du contrôle positif **Control +**, du contrôle négatif **Control -**, et de la suspension de l'échantillon de selles dans les puits. Ajouter ensuite 100 µl de l'anticorps conjugué à la biotine **Conjugate | 1**, et mélanger (en tapotant légèrement le bord de la plaque), puis incuber pendant 60 minutes à température ambiante (20 - 25 °C).

9.5 Lavage

Un lavage soigneux est important afin d'obtenir des résultats corrects ; il convient donc de suivre les instructions fournies à la lettre. La substance incubée dans les puits doit être déversée dans un conteneur de déchets et mise au rebut conformément aux réglementations locales. Retourner ensuite la plaque sur du papier absorbant pour éliminer l'humidité résiduelle. Laver ensuite la plaque cinq fois systématiquement avec 300 µl de tampon de lavage **Wash buffer**. S'assurer que les puits sont complètement vidés en les tapotant après chaque lavage sur un morceau de papier absorbant encore sec et inutilisé.

En cas d'utilisation d'un laveur de microplaques ou d'un système ELISA entièrement automatisé, veiller à ce que l'appareil soit correctement réglé. Demander, au besoin, au fabricant de vous en fournir les réglages. Les appareils fournis par R-Biopharm sont déjà programmés avec des réglages et des protocoles de travail validés. Pour éviter d'obstruer les aiguilles de lavage, il convient de n'utiliser que des suspensions de selles dépourvues de particules (voir paragraphe 9.3, Préparation des échantillons). S'assurer également que tout le liquide est aspiré à chaque étape de lavage.

9.6 Deuxième incubation

À l'aide d'une pipette, ajouter 100 µl de conjugué polyperoxydase-streptavidine **Conjugate 2** dans les puits, puis incuber pendant 15 minutes à température ambiante (20 à 25 °C).

9.7 Lavage

Laver en suivant les instructions de la rubrique 9.5.

9.8 Troisième incubation

Ajouter 100 µl de substrat **Substrate** dans tous les puits. Ensuite, incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C), dans le noir, pendant 15 minutes. Remplir ensuite tous les puits avec 50 µl de réactif d'arrêt **Stop** afin d'arrêter la réaction. Après un mélange soigneux en tapotant légèrement le côté de la plaque, mesurer l'extinction à **450 nm et à une longueur d'onde de référence de 620 nm**.

Remarque: des échantillons de patients fortement positifs peuvent entraîner des précipités noirâtres du substrat.

10. Contrôle qualité – signes d'instabilité ou de détérioration des réactifs

À des fins de contrôle qualité, chaque fois qu'un test est effectué, il est nécessaire d'utiliser des contrôles positif et négatif, pour vérifier la stabilité des réactifs et la réalisation correcte du test. Le test s'est déroulé correctement lorsque la valeur d'extinction (DO) du contrôle négatif à 450 nm est inférieure à 0,02 (inférieure à 0,160 à 450/620 nm) et lorsque la valeur mesurée du contrôle positif est supérieure à

0,8 à 450 m ou à 450/620 nm. Une valeur supérieure à 0,2 (0,160) pour le contrôle négatif pourrait indiquer que le lavage n'a pas été suffisant. Tout écart par rapport aux valeurs requises, par exemple la présence de turbidité ou d'une coloration bleue du substrat incolore avant le remplissage des puits, pourrait indiquer une dénaturation des réactifs. En cas d'écart par rapport aux valeurs indiquées, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Procédure de test correcte
- Inspection visuelle des composants de la trousse à la recherche d'une contamination ou de fuites ; une solution de substrat devenue bleue ne doit pas être utilisée.

Si les conditions ne sont toujours pas satisfaites après avoir recommencé le test, consulter le fabricant ou un distributeur R-Biopharm local.

11. Évaluation et interprétation

11.1. Calcul de la valeur seuil

Pour déterminer la valeur seuil, on ajoute 0,15 unité d'extinction à l'extinction mesurée du contrôle négatif.

$$\text{Valeur seuil} = \text{valeur d'extinction du contrôle négatif} + 0,15$$

11.2. Résultats du test

Un échantillon est estimé comme étant positif lorsque sa valeur d'extinction est supérieure de plus de 10 % à la valeur seuil calculée.

Un échantillon est estimé comme étant limite si sa valeur d'extinction se situe dans une plage allant de -10 % à +10 % de la valeur seuil. Si un nouvel examen utilisant un nouvel échantillon de selles obtient une valeur comprise dans cette même plage d'ombre, l'échantillon est considéré comme étant négatif.

Des échantillons ayant des valeurs d'extinction inférieures à -10 % de la valeur seuil calculée doivent être considérés comme étant négatifs.

12. Limites de la méthode

Le test RIDASCREEN® Entamoeba identifie les antigènes de *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar*. Il n'est pas possible d'en déduire un rapport entre le niveau d'une valeur d'extinction déterminée et l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques. Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés conjointement aux signes et symptômes cliniques.

Un résultat positif n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes infectieux. Un résultat négatif n'exclut pas une éventuelle amibiase. Un tel résultat peut être causé par l'élimination temporaire de l'agent pathogène ou par une quantité trop faible d'antigène dans l'échantillon. Si l'anamnèse est en faveur d'une suspicion d'infection par *Entamoeba histolytica*, un autre prélèvement de selles doit être examiné. S'il y a des raisons de suspecter une amibiase extra-intestinale, la suspicion peut être confirmée par l'identification d'anticorps spécifiques ciblant *Entamoeba histolytica* dans le sérum (RIDASCREEN® E. histolytica IgG, Réf. : K1721).

Un résultat limite peut être causé par une répartition non homogène des antigènes dans l'échantillon de selles. Dans un tel cas, l'examen doit être répété avec une deuxième suspension provenant du même échantillon ou il convient de demander un autre prélèvement de selles à examiner.

13. Performances

13.1 Sensibilité analytique

Afin de déterminer la sensibilité analytique du test RIDASCREEN® Entamoeba ELISA, une série de dilutions linéaire d'un échantillon renfermant une quantité connue de kystes d'Entamoeba a été préparée et mesurée en triple. Le seuil de détection (LD) est la dernière concentration évaluée comme étant positive dans toutes les répétitions. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 2.

Tableau 2: Résultats de la sensibilité analytique vis-à-vis de *Entamoeba histolytica* du test RIDASCREEN® Entamoeba ELISA

	<i>E. histolytica</i>		<i>E. dispar</i>	
	VM [OD 450/620]	Kystes/ Réaction	VM [OD 450/620]	Kystes/ Réaction
LD	0,173	17	0,200	595

13.2 Étude de comparaison clinique

Des échantillons de selles préalablement identifiés (10 positifs et 30 négatifs pour Entamoeba) ont été analysés avec le test RIDASCREEN® Entamoeba et comparés aux résultats du test ELISA d'un concurrent. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 3.

Tableau 3: Comparaison du test RIDASCREEN® Entamoeba ELISA et d'un test ELISA de la concurrence, avec des échantillons de selles

		Concurrence	
		Positif	Négatif
RIDASCREEN® Entamoeba	Positif	9	1
	Négatif	0	30

Corrélation positive: 94,7 % Corrélation négative: 98,4 %

En outre, une dilution en série a été préparée à partir de souches certifiées de *E. histolytica* pour une étude comparative du test RIDASCREEN® Entamoeba ELISA avec deux produits de la concurrence. Les résultats sont indiqués dans le tableau 4.

Tableau 4: Comparaison du test RIDASCREEN® Entamoeba ELISA et de deux tests ELISA de la concurrence, en utilisant un mélange de souches de *Entamoeba histolytica*

<i>E. histolytica</i>	RIDASCREEN® Entamoeba VM [DO 450/620]	ELISA 1 VM [DO 450/620]	ELISA 2 VM [DO 450/620]
Souche 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 +
Souche 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 -
Souche 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 +

DO 450/620 ≥ 1,5: +++

DO 450/620 0,5 – 1,5: ++

DO 450/620 < 0,5: +

DO 450/620 < valeur seuil: -

13.3 Réactivité croisée

Différents micro-organismes pathogènes du tractus intestinal ont été examinés avec le test RIDASCREEN® Entamoeba et à l'exception de *Campylobacter coli*, ils n'ont pas présenté de réactivité croisée. Ces études ont été réalisées avec des suspensions de bactéries ou de virus non diluées dont les concentrations étaient de 10⁶ à 10⁹ organismes par ml. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 5.

Tab. 5: Réactivité croisée avec des micro-organismes pathogènes

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

13.4 Précision

Afin de déterminer la reproductibilité intra-test, 40 répétitions de ces références ont été mesurées, couvrant l'ensemble de la plage de mesure des valeurs négatives à fortement positives. Les valeurs moyennes et les coefficients de variation (CV) ont été déterminés pour trois lots de trousse. Pour ce qui est de la reproductibilité intra-test, les références de dix jours de travail différents ont été mesurées en double, avec deux passages par jour. Les mesures ont été effectuées par trois techniciens et trois lots de trousse. La reproductibilité inter-lots a été déterminée sur les trois lots de trousse. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 6.

Tableau 6: Reproductibilité et précision du test RIDASCREEN® Entamoeba ELISA

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

13.5 Substances interférentes

Les substances mentionnées ci-dessous n'ont pas présenté d'effet sur les résultats du test lorsqu'elles ont été mélangées dans les surnageants des échantillons de selles positifs et négatifs pour Entamoeba dans les concentrations indiquées :

Mucines	5,0 % p/p	Diclofénac	0,1 % v/p
Sang humain	5,0 % v/p	Cyclamate	1,3 % v/p
Pepto-bismol	6,6 % v/p	Acide stéarique et acide palmitique	40 % p/p (mélange 1:1)
Lopéramide	0,02 % p/p	Métronidazole	0,5 % solution










Une éventuelle relation entre la dose et l'effet a été étudiée pour le sulfate de baryum (18,5 % p/p). Cette investigation avec une dilution en série avec le sulfate de baryum n'a toutefois pas mis en évidence de relation entre la concentration et les valeurs de DO. La seule exception est la concentration la plus élevée testée, mais elle est encore supérieure à celle du « pire cas » qui a déjà été testée dans la première analyse (trois fois la dose quotidienne). Une interférence due au sulfate de baryum peut donc être considérée comme étant improbable.

14. Historique des versions


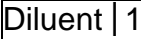
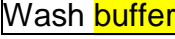
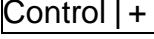

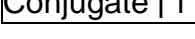
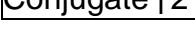
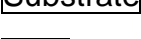

Numéro de version	Chapitre et désignation
2017-04-20	Version précédente
2019-07-10	Révision générale 4. Contenu du paquet 8. Prélèvement et conservation des échantillons 9.2 Préparation du tampon de lavage 9.5 Lavage 9.8 Troisième incubation 13.2 Étude de comparaison clinique

15. Signification des symboles

Symboles généraux

	Pour le diagnostic <i>in-vitro</i>
	Respecter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

Symboles spécifiques au test

	Plaque de microtitrage
	Tampon de dilution d'échantillon 1
	Tampon de lavage
	Contrôle positif
	Contrôle négatif
	Conjugué 1
	Conjugué 2
	Substrate
	Réactif stop

16. Bibliographie

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).