

ENGLISH - ESPAÑOL

Ref: RTB25EH
RTB25EHC
RTB25EHCN



biotical Entamoeba Card

Rapid Test to detect
Entamoeba in card
format

Prueba rápida para la
detección de Entamoeba
en formato de tarjeta.

biotical health
ready to test



IU RTB25EH-RTB25EHC-RTB25EHCN Rev. 02 / 2024-01

ISO 13485 CERTIFIED
MEDICAL DEVICE
QUALITY MANAGEMENT SYSTEM





biotical Entamoeba Card

ENGLISH

WHAT IS BIOTICAL ENTAMOEBEA CARD?

biotical Entamoeba Card is a rapid immunochromatography test for the qualitative detection of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* antigens in stool samples. Thanks to its easy handling and high sensitivity, the healthcare professional can make a presumptive diagnosis of amebiasis.

AMEBIASIS

Amebiasis is an infection of the gastrointestinal tract due to *Entamoeba histolytica*, a protozoan capable of invading the intestinal mucosa and can spread to other organs. *Entamoeba dispar* (amoeba morphologically similar to *E. histolytica*), is the species without invasive potential and is the cause of most asymptomatic infections.

Amebiasis uses to occur in areas where sanitary conditions are inadequate. On the entire planet, each year about 40 to 50 million people develop amebiasis, and between 40,000 and 70,000 of these people die as a result of the disease, making amebiasis the fourth leading cause of death due to protozoan infection.

Entamoeba exists in two forms: trophozoite (active parasite) or cyst (latent parasite). Many people have no symptoms or have few symptoms; however, they excrete cysts in stool and, therefore, they can spread the infection.

The disease can manifest itself as acute, chronic or as an asymptomatic infection.

Possible symptoms of amebiasis include flatulence, painful abdominal cramps, intermittent diarrhoea or constipation and, in most severe cases, dysentery (loose stools with mucus and blood), formation of amebomas (large lumps in the colon) and abscesses in the liver. The infection occurs in contaminated water, fresh vegetables and fruits or other undercooked or washed food. It is also possible that faeces cysts are transported to food through flies or cockroaches.

The diagnosis is usually analysing the stool and, if necessary, performing a colonoscopy, ultrasound or blood test. biotical Entamoeba card is a qualitative immunochromatographic test for the detection of and Entamoeba histolytic and dispar antigens in stool samples. The result is obtained in 10 minutes.

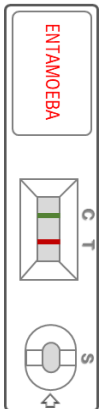
TABLE OF REFERENCES

In the following table will be able to find all the product references related to the acquired test.

REFERENCE	NAME	CONTENT
RTB25EH	biotical Entamoeba Card	25 tests without positive or negative controls.
RTB25EHC	biotical Entamoeba Card (+PC)	25 tests with positive control, without negative control.
RTB25EHCN	biotical Entamoeba Card (+PC +NC)	25 tests with positive and negative control.

HOW DOES BIOTICAL ENTAMOEBEA CARD WORK?

The card contains inside a test strip with a nitrocellulose membrane that has been previously precoated with:



- In the **GREEN** line (C): with rabbit polyclonal antibodies against a specific protein.
- In the **RED** line (T): with mouse monoclonal antibodies against *Entamoeba*.
- **Sample area (S)**: the pad where the sample is placed has been dispensed with a preparation of reagents (mouse monoclonal antibodies against *Entamoeba*) conjugated with latex of red polystyrene and with another preparation for the control line C (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex.

TEST LINES:

If the sample is positive: The antigens of the patient's stool sample will react with the red coloured conjugate complexes (anti-*Entamoeba* monoclonal antibodies-latex red microspheres) and it will advance by capillary through the membrane. As the sample migrates, so do the conjugate complexes. The antibodies anti-*Entamoeba* present in the T line will capture the complex giving rise in a red line.

If the sample is negative: If the sample is negative and therefore does not contain antigens (or the antigen is present in a concentration below the detection limit), there is no reaction with the red coloured complex. The anti-*Entamoeba* antibodies present in the T line will not capture the red coloured antigen-complex (not formed) and the red lines will not appear.

CONTROL LINE (C):

Regardless of whether the sample is positive or not, to verify that the test has been performed correctly (sufficient sample volume, appropriate flow, internal control of the reagents, etc.) the mixture will continue moving through the membrane towards the immobilized antibodies against the specific protein located in the control line (C). These specific anti-protein antibodies present in the membrane will capture the control conjugate complex and the green control line will always appear.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable until the expiration date marked on its sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

GENERAL PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. A new test must be used for each sample to avoid contamination errors.
- The test and samples should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- Reagents contain preservatives. Avoid any contact with skin or mucous membrane. Consult safety data sheet, available on request.
- Components provided in the kit are approved for use in the test that are supplied. Do not use any other commercial kit component if compatibility is not specified.

- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.

MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- Cassette or Test Card.
- Instructions for use.
- Stool collection tubes with diluent.
- Positive Control (only RTB25EHC & RTB25EHCN references).
- Negative Control (only RTB25EHCN reference).

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container.
- Disposable gloves.
- Timer.

The kit contains materials for the analysis of a maximum of 25 samples or controls.

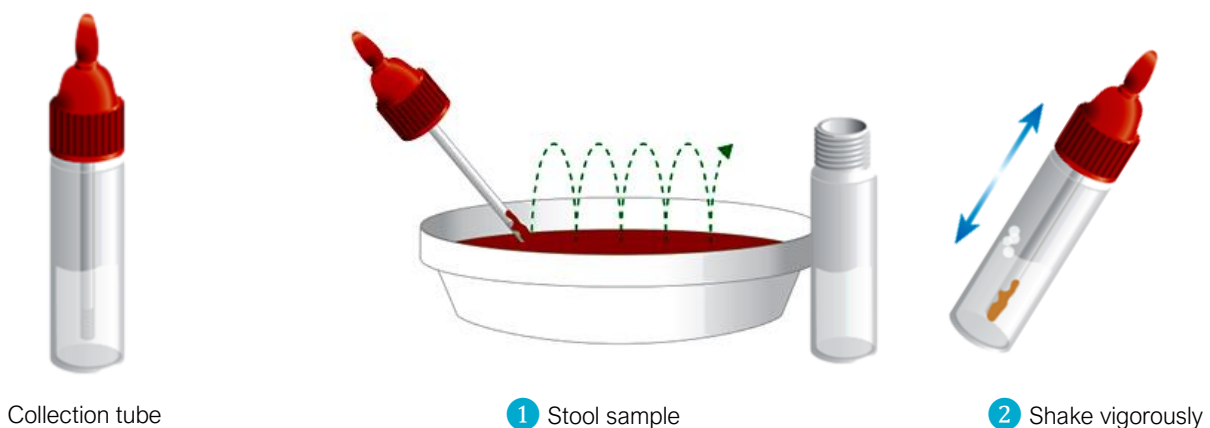
SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Stool samples should be collected in clean containers. The samples can be stored in the refrigerator (2-8°C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen (-20°C). In this case, the sample will be totally thawed and brought to room temperature before testing. Homogenise stool samples as thoroughly as possible prior to preparation.

Only fresh or fresh-frozen unpreserved and unfixed stool samples can be tested.

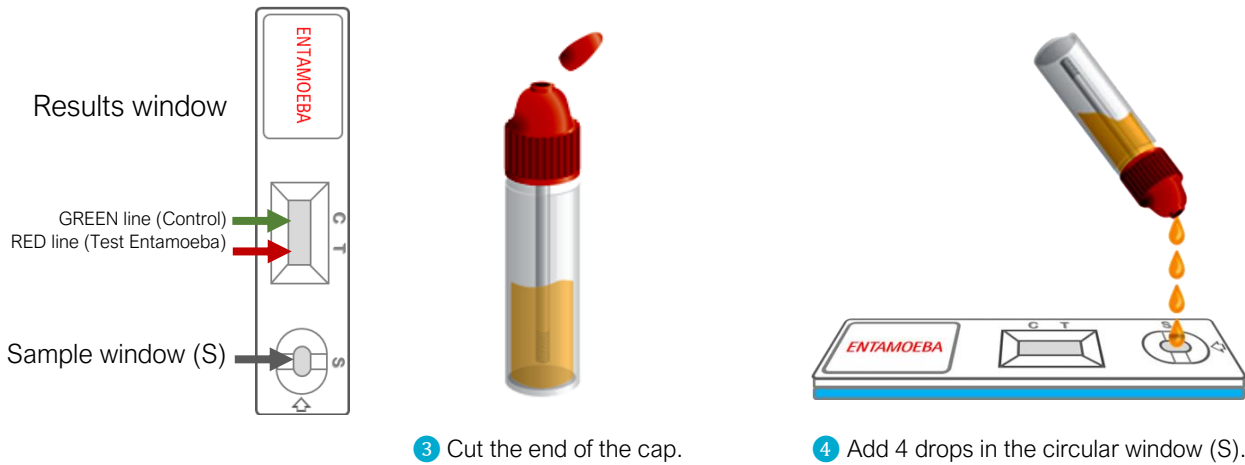
Specimen preparation (see illustration):

- Take out the cap of the stool collection tube and use the stick to pick up sufficient sample quantity. Then, introduce the stick once into 4 different parts of the stool sample **1**, to collect faecal sample (aprox. 125mg) and add it to the stool collection tube. For liquid samples, add approx. 125µL in the stool collection tube using a micropipette.
- Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion **2**. Use only fresh samples or fresh frozen samples without preservatives or fixatives.



TEST PROCEDURE

Allow tests and samples to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.

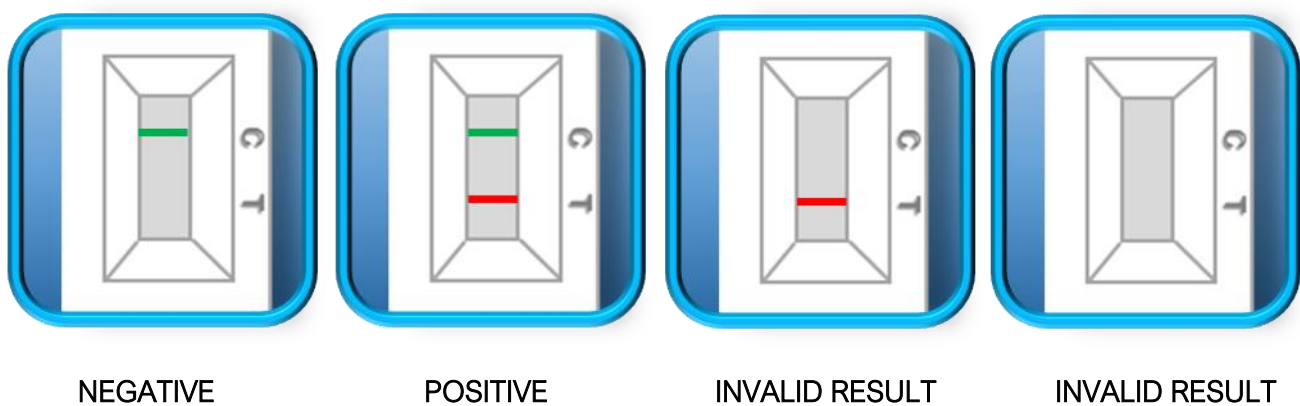


- Proceed to **shake the stool collection tube** in order to assure good sample dispersion.
- Remove the test card from its sealed bag just before using it.
- Take the stool collection tube, **cut the end of the cap** 3.
- **Dispense 4 drops** from the testing tube in the circular window marked with the letter S 4. Avoid adding solid particles with the liquid.
- **Read the results at 10 minutes.** The results will not be valid after 10 minutes.

If the test does not run due to solid particles, stir the sample added in the sample window (S) with the stick. If it doesn't work, dispense a drop of diluent until seeing the liquid running through the reaction zone.

INTERPRETATION OF RESULTS

(Please refer to the illustration below)





	biotical Test	Interpretation of the results
1	C = GREEN LINE T = NO LINE	NEGATIVE Only the GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line). No presence of <i>Entamoeba histolytica</i> or <i>Entamoeba dispar</i> is detected in the sample.
2	C = GREEN LINE T = RED LINE	POSITIVE In addition to the GREEN control line, a RED line also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window. <i>Entamoeba histolytica</i> or <i>dispar</i> presence is detected in the sample.
3-4	Any other result	INVALID Total absence of the control line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED) causes an invalid result. Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the result still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured band in the test line (T) in the results windows will vary depending on the concentration of antigens present in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural control is included in the test. A green line appearing in the control line (C) in the results window as an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

The following sections (**POSITIVE CONTROL** & **NEGATIVE CONTROL**) only apply if the corresponding positive and negative controls are available (sold separately or with kits references **RTB25EHC** & **RTB25EHCN**).

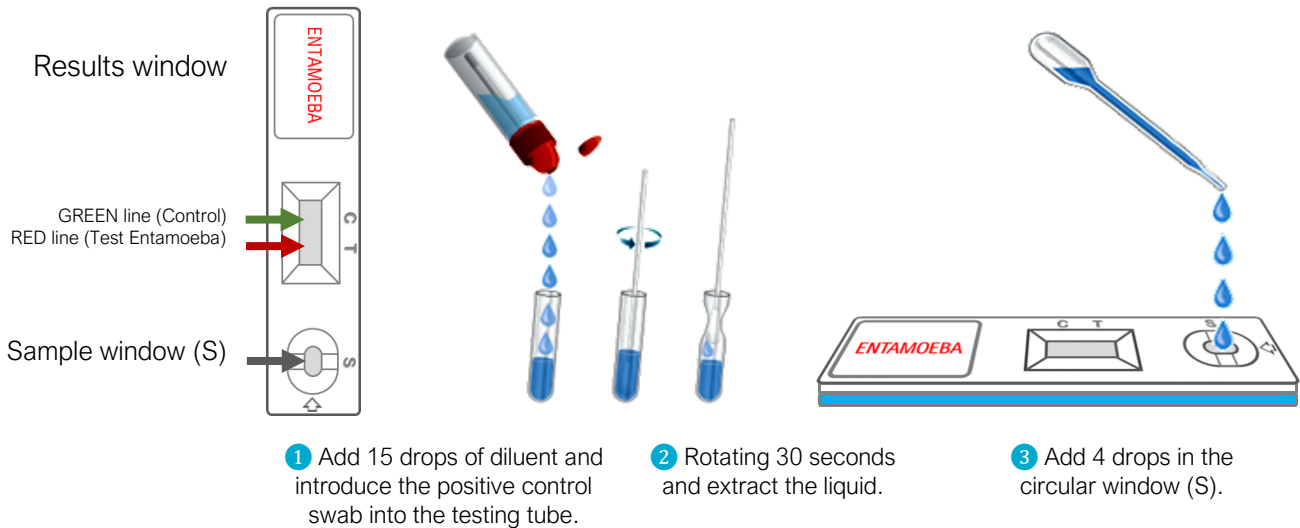
POSITIVE CONTROLS: INTENDED USE & COMPOSITION

The biotical Entamoeba Positive Control is an external quality control for biotical Entamoeba card. Use this control swabs to check that the sample reagents and the test card are working properly.

biotical Entamoeba Positive Control: inactivated *Entamoeba* antigens dried in swab containing a preservative.

POSITIVE CONTROLS: TESTING PROCEDURE

Allow tests and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.



- Add 15 drops of diluent and immediately introduce the positive control swab into the testing tube 1.
- Mix the solution by rotating the positive control swab forcefully against the side of the testing tube at least 30 seconds 2. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the testing tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
- Remove the biotal device from its sealed bag just before using it.
- Use a separate pipette and test for each control. Dispense 4 drops from the testing tube in the circular window marked with the letter S 3.
- Read the result at 10 minutes. do not read the test result later than 10 minutes.

POSITIVE CONTROL: INTERPRETATION OF RESULTS

	biotal Test	Interpretation of the results
1	<p>C = GREEN LINE T = RED LINE</p>	<p>RESULT: CONTROL POSITIVE</p> <p>A GREEN line (C) and a RED line (T) appear across the results window during the test performance due to presence of the antigens in the positive control swab.</p>
2		<p>INVALID RESULT</p> <p>Total absence of the control line (GREEN), regardless the appearance or not of the test line (RED), or only appears the control line.</p> <p>Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the control with a new test and a new positive control swab.</p>

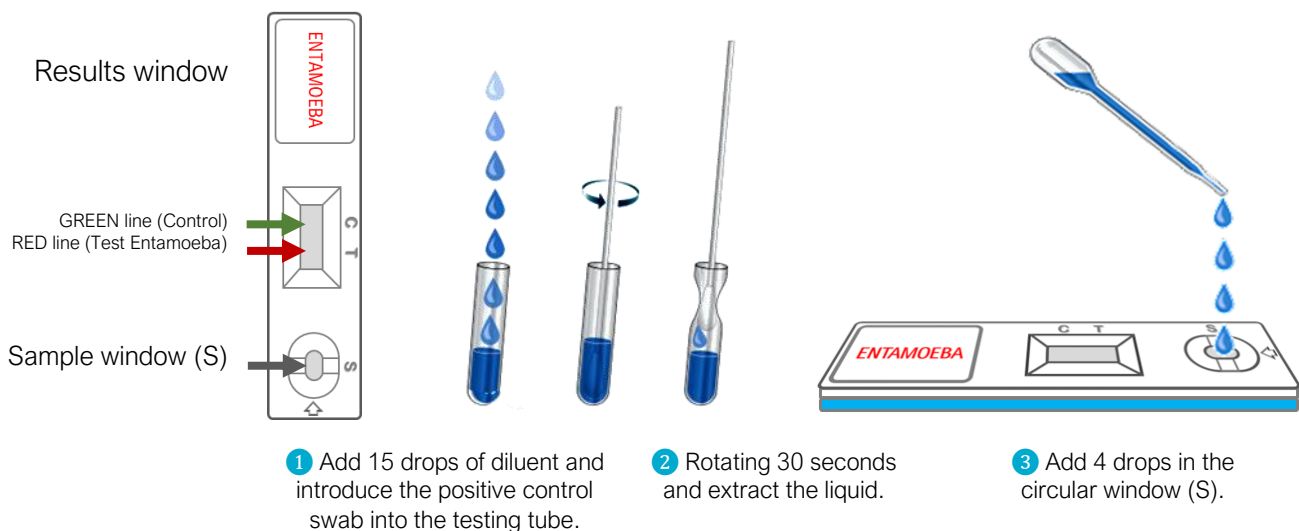
NEGATIVE CONTROL: INTENDED USE & COMPOSITION

The biotical Negative Control is an external quality control for all immunochromatographic tests manufactured by biotical. Use this control swab to check that the extraction reagents and the test are working properly.

biotical Negative Control is manufactured with negative control buffer dried in swab containing a preservative.



NEGATIVE CONTROL: TESTING PROCEDURE

Allow tests and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.



- **Add 15 drops of diluent** and immediately introduce the negative control swab into the testing tube **1**.
- Mix the solution by **rotating the negative control swab** forcefully against the side of the testing tube at least **30 seconds** **2**. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the testing tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
- Remove the biotical device from its sealed bag just before using it.
- Use a separate pipette and test for each control. **Dispense 4 drops** from the testing tube in the circular window marked with the letter S **3**.
- **Read the result at 10 minutes**. do not read the test result later than 10 minutes.

NEGATIVE CONTROL: INTERPRETATION OF RESULTS

	biotical Test	Interpretation of the results
1	 <p>C = GREEN LINE T = NO LINE</p>	<p>RESULT: CONTROL NEGATIVE</p> <p>Only the control line (C) appears across the results window during the test performance.</p>
2		<p>RESULT: INVALID FOR NEGATIVE CONTROL</p> <p>Total absence of the control line, and/or the card shows the test line. Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the main reasons for control line failure.</p> <p>Review the procedure and repeat the control with a new test and a new negative control swab.</p>

LIMITATIONS OF THIS TEST

- The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed bag.
- Only fresh or fresh-frozen unpreserved and unfixed stool samples can be tested.
- An excess of sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the diluent and repeat the test.
- The intensity of test line may vary from very strong at high antigens concentration to faint when the antigens concentration is close to the detection limit value of the test.
- This test should be used only with samples from human faeces. The use of other samples has not been established. The quality of the test depends on the quality of the sample; proper faecal specimens must be obtained.
- After one week of infection, the number of parasites in faeces is decreasing, making the sample less reactive. Stool samples should be collected within one week of the onset of symptoms.
- Positive results determine the presence of *Entamoeba histolytica* and/or *E. dispar* in faecal samples; nevertheless, a positive result should be followed up with additional laboratory techniques (biochemical methods or microscopy). A confirmed infection should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated and must be based in the correlation of the results with further clinical observations.
- A negative result is not meaningful because of it is possible the antigens concentration in the stool samples is lower than the detection limit value. If the symptoms or situation still persist, an *Entamoeba histolytica* and/or *E. dispar* determination should be carried out with another technique (for example, microscopy).
- Bloody stool samples can contain components that may cause non-specific reactions in the test. Every bloody stool sample whose result is positive should be followed up with other techniques of diagnosis to confirm the result.
- Mucous stool samples may cause non-specific reactions in the test- Every mucous stool sample whose result is positive should be followed up with other techniques of diagnosis to confirm the result.



PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Clinical sensitivity and specificity

An evaluation was performed, using faecal samples, comparing the results obtained by an immunochromatographic test (biotical Entamoeba, biotical) and other commercial qPCR tests (VIASURE Entamoeba histolytica Real Time Detection Kit and VIASURE Entamoeba dispar Real Time Detection Kit, Certest).

The results were as follows:

		qPCR test: VIASURE Entamoeba histolytica Real Time detection Kit		
		+	-	Total
IC test: Biotical Entamoeba Card	+	4	1	5
	-	1	107	108
	Total	5	108	113

<i>Biotical Entamoeba Card vs VIASURE Entamoeba Histolytica Real Time detection Kit</i>	MEAN VALUE E. histolytica	95% CONFIDENCE INTERVAL
SENSITIVITY	80.0%	28.4 - 99.5%
SPECIFICITY	99.1%	94.9 - 100%
PPV	80.0%	35.1 - 96.7%
NPV	99.1%	94.9 - 99.8%
ACCURACY	98.2%	93.8 - 99.8%

		qPCR test: VIASURE Entamoeba Dispar Real Time detection Kit		
		+	-	Total
IC test: Biotical Entamoeba Card	+	15	1	19
	-	6	107	113
	Total	21	108	129

<i>Biotical Entamoeba Card vs VIASURE Entamoeba Dispar Real Time detection Kit</i>	MEAN VALUE E. dispar	95% CONFIDENCE INTERVAL
SENSITIVITY	71.4%	47.8 - 88.7%
SPECIFICITY	99.1%	95.0 - 100%
PPV	93.8%	67.7 - 99.1%
NPV	94.8%	90.2 - 97.3%
ACCURACY	94.6%	89.2 - 97.8%



		qPCR test: VIASURE Entamoeba Histolytica Real Time Detection Kit + VIASURE Entamoeba Dispar Real Time detection Kit		
		+	-	Total
IC test: Biotical Entamoeba Card	+	19	2	21
	-	7	214	221
	Total	26	216	242

<i>Biotical Entamoeba Card vs VIASURE Entamoeba Histolytica Real Time detection Kit + VIASURE Entamoeba Histolytica Real Time detection Kit</i>	MEAN VALUE E. histolytica + E. dispar	95% CONFIDENCE INTERVAL
SENSITIVITY	73.1%	52.2 – 88.4%
SPECIFICITY	99.1%	96.7 – 99.9%
PPV	90.5%	70.1 – 97.5%
NPV	96.8%	94.2 – 98.3%
ACCURACY	96.3%	93.1 – 98.3%

The results showed a high sensitivity and specificity to detect *Entamoeba histolytica* & *Entamoeba dispar* using biotical Entamoeba Card.

CROSS REACTIVITY

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of biotical Entamoeba Card; no cross reactivity against gastrointestinal organism occasionally present in faeces.

Campylobacter jejuni

Campylobacter coli

Clostridium difficile

Escherichia coli O157:H7

Cryptosporidium parvum

Giardia lamblia

Helicobacter pylori

Listeria monocytogenes

Salmonella enteritidis

Salmonella paratyphi

Salmonella typhi

Salmonella typhimurium

Shigella boydii

Shigella dysenteriae

Shigella flexneri

Shigella sonnei

Staphylococcus aureus

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS & REAGENTS



In vitro diagnostic device



Consult instructions for use



Keep dry



Use by



Temperature limitation



Manufacturer



Contains sufficient for <n> test

DIL

Sample diluent

LOT

Batch code

REF

Catalogue number



biotical Entamoeba Card

ESPAÑOL

¿PARA QUÉ SE USA BIOTICAL ENTAMOEBEA CARD?

biotical Entamoeba Card es una prueba rápida inmunocromatográfica para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* en muestras de heces. Gracias a su fácil manejo y su alta sensibilidad, el profesional sanitario podrá realizar un diagnóstico presuntivo de amebiasis.

AMEBIASIS

La amebiasis es una infección del tracto gastrointestinal debida a la *Entamoeba histolytica*, un protozoo capaz de invadir la mucosa intestinal pudiendo extenderse a otros órganos. La *Entamoeba dispar* (ameba morfológicamente similar a *E. histolytica*), es la especie sin potencial invasor y es la causante de la mayoría de las infecciones asintomáticas.

La amebiasis tiende a producirse en zonas donde las condiciones sanitarias son inadecuadas. En todo el planeta, cada año cerca de 40 a 50 millones de personas desarrollan amebiasis, y entre 40.000 y 70.000 de estas personas mueren como consecuencia de la enfermedad, haciendo que la amebiasis sea la cuarta causa principal de muerte debido a una infección por protozoos.

Entamoeba existe en dos formas: trofozoíto (parásito activo) o quiste (parásito en estado latente). Muchas personas no tienen síntomas o tienen pocos, sin embargo, excretan quistes en las heces y, por tanto, pueden propagar la infección. La enfermedad puede manifestarse por sí misma como aguda, crónica o como una infección asintomática.

Los posibles síntomas de la amebiasis consisten en flatulencias, cólicos abdominales dolorosos, diarrea intermitente o estreñimiento y, en los casos más graves, disentería (deposiciones sueltas con moco y sangre), formación de amebomas (grandes bultos en el colon) y abscesos en el hígado. La infección se da en aguas contaminadas, verduras y frutas frescas u otro alimento poco cocinado o lavado. También es posible que a través de moscas o cucarachas se transporten los quistes de las heces a los alimentos.

El diagnóstico suele ser analizando las heces y, si fuera necesario, realizando una colonoscopia, ecografía o análisis de sangre. biotical Entamoeba Card, es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de antígenos de *Entamoeba histolytica* y *dispar* en muestras de heces. El resultado se obtiene en 10 minutos.

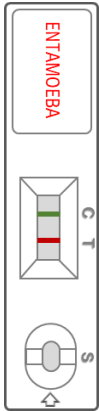
TABLA DE REFERENCIAS

En la siguiente tabla puede encontrar todas las referencias de productos relacionados con el test adquirido.

REFERENCIA	NOMBRE	CONTENIDO
RTB25EH	biotical Entamoeba Card	25 Test sin control positivo ni control negativo.
RTB25EHC	biotical Entamoeba Card (+PC)	25 Test con control positivo, sin control negativo.
RTB25EHCN	biotical Entamoeba Card (+PC +NC)	25 Test con control positivo y negativo.

¿CÓMO FUNCIONA BIOTICAL ENTAMOEBIA CARD?

El casete (card) posee en su interior una tira reactiva con una membrana de nitrocelulosa que ha sido fijada previamente:



- En la línea **VERDE (C)**: con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica.
- En la línea **ROJA (T)**: con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Entamoeba*.
- En la zona de muestra **(S)**: se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea T (anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Entamoeba*) conjugados con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde; formando dos complejos coloreados conjugados.

LÍNEA DE TEST (T):

Si la muestra es positiva: Los antígenos de la muestra de heces del paciente reaccionarán con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-*Entamoeba*-microesferas rojas de látex para la línea T) y avanzarán por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-*Entamoeba* presentes en la línea de T capturarán el complejo dando lugar a una línea roja.

Si la muestra es negativa: Si la muestra es negativa y por lo tanto no contiene antígenos (o estos está presentes en una concentración inferior al límite de detección), no se producirá reacción con los complejos coloreados rojos. Los anticuerpos anti-*Entamoeba* presentes en la línea T no capturarán los antígenos-complejos coloreados y no aparecerán la línea roja.

LÍNEA DE CONTROL (C):

Independientemente de que la muestra sea positiva o negativa, para verificar que se ha realizado correctamente el test (volumen de muestra suficiente, flujo apropiado, control interno de los reactivos, etc.) la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en la línea de control (C). Estos anticuerpos antiproteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control y la línea de control verde siempre aparecerá.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES GENERALES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.

- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada muestra para evitar errores de contaminación.
- Los test y las muestras deben desecharse en un contenedor de residuos sanitarios adecuado después de su uso.
- Los reactivos contienen conservantes. Evite cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consulte la ficha de datos de seguridad, disponible bajo petición.
- Los componentes incluidos en el kit están aprobados para su uso en la prueba que se suministran. No utilice ningún otro componente de kit comercial si no se especifica la compatibilidad.
- Siga las buenas prácticas de laboratorio, use ropa protectora, use guantes de eliminación, gafas y máscara. No coma, bebe ni fume en el área de trabajo.

MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- Casete o tarjeta (Card) de test.
- Instrucciones de uso.
- Tubos para dilución de muestra con diluyente.
- Control positivo (solo en las referencias RTB25EHC & RTB25EHCN).
- Control negativo (solo en la referencia RTB25EHCN).

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para recogida de muestras.
- Guantes desechables.
- Cronómetro.

El kit contiene materiales para el análisis de hasta 25 muestras o controles.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

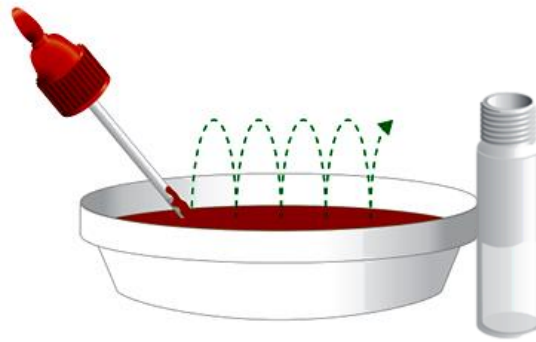
Las muestras de heces deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se deben conservar en frío (2-8°C) como máximo 1-2 días hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20°C. En este caso, la muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba. Homogeneizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

- Abrir el tubo para dilución de muestra y con ayuda del palito tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas. Para ello se introducirá el palito una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra **1**, tomando una pequeña cantidad de heces (aprox.125mg) y posteriormente se introducirá la muestra en el tubo para dilución de muestra. Para muestras líquidas, añadir aprox. 125µL en el tubo para dilución de muestra utilizando una micropipeta.
- Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra **2**. Utilizar únicamente muestras frescas o muestras frescas congeladas sin conservantes ni fijadores.



Tubo para dilución de muestra



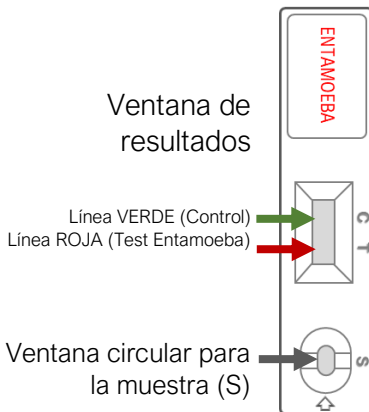
1 Muestra de heces



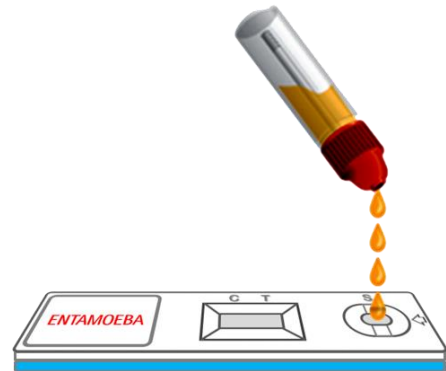
2 Agite vigorosamente

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Previamente los tests, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30 °C). no abrir los envases hasta el momento de la prueba.



3 Cortar el extremo de la tapa.



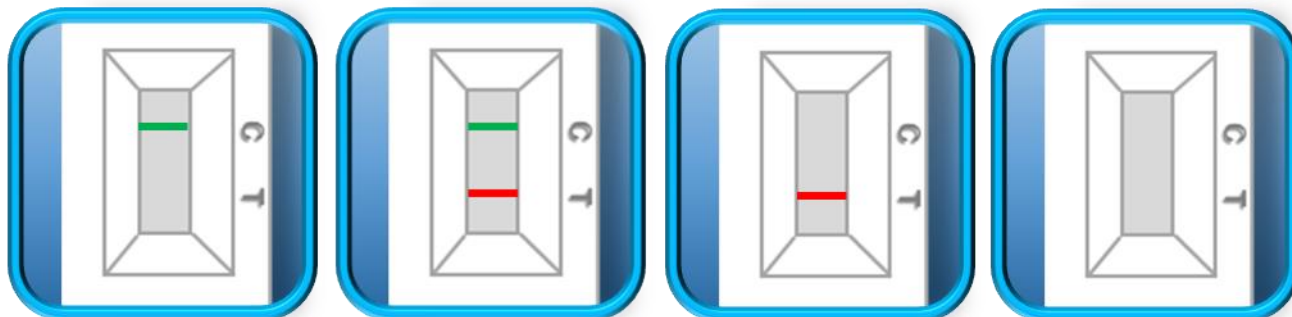
4 Añadir 4 gotas en la ventana circular (S).

- Proceder a **agitar el tubo de recogida de heces** para asegurar una buena dispersión de la muestra.
- Retire la tarjeta de test (card) de su bolsa sellada justo antes de usarla.
- Tomar el tubo para dilución de muestra, **cortar la punta del tapón** 3.
- **Añadir 4 gotas** del tubo de ensayo en la ventana circular marcada con la letra S 4. Evite añadir partículas sólidas con el líquido.
- **Leer los resultados a los 10 minutos.** Los resultados no serán válidos después de 10 minutos.

Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas, agitar con el palito la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

(Por favor fíjese a la ilustración de abajo)



NEGATIVO

POSITIVO

NO VÁLIDO

NO VÁLIDO

	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	C = LÍNEA VERDE T = NO HAY LÍNEA	NEGATIVO Solo aparece la línea VERDE en la ventana de resultados en el sitio marcado con la letra C (línea de control). No se detecta presencia de <i>Entamoeba hystolitica</i> o <i>dispar</i> en la muestra.
2	C = LÍNEA VERDE T = LÍNEA ROJA	POSITIVO Además de la línea de control VERDE , también aparece una línea ROJA en el sitio marcado con la letra T (línea de test) en la ventana de resultados. Se detecta presencia de <i>Entamoeba hystolitica</i> o <i>dispar</i> en la muestra.
3-4	Cualquier otro resultado	RESULTADO NO VÁLIDO La ausencia total de la línea de control (VERDE) sin importar si aparece o no la línea de test (ROJA) causa un resultado no válido. Un volumen insuficiente de la muestra, técnicas de procedimiento incorrectas o el deterioro de los reactivos son las razones principales por las que aparece este resultado. Revise el procedimiento y repita el ensayo con un nuevo test. Si el resultado persiste, póngase en contacto con su distribuidor local.

NOTAS SOBRE LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La intensidad de la línea de color rojo en la línea de test (T) en la ventana de resultados variará dependiendo de la concentración de antígeno presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígeno pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El test incluye un control interno de procedimiento. La línea verde que aparece en la línea de control (C) en la ventana de resultados es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

Las siguientes secciones (**CONTROL POSITIVO** & **CONTROL NEGATIVO**) solo se aplica si los controles positivo o negativo correspondiente están disponibles (vendidos por separado o con kits con referencias **RTB25EHC** & **RTB25EHCN**).

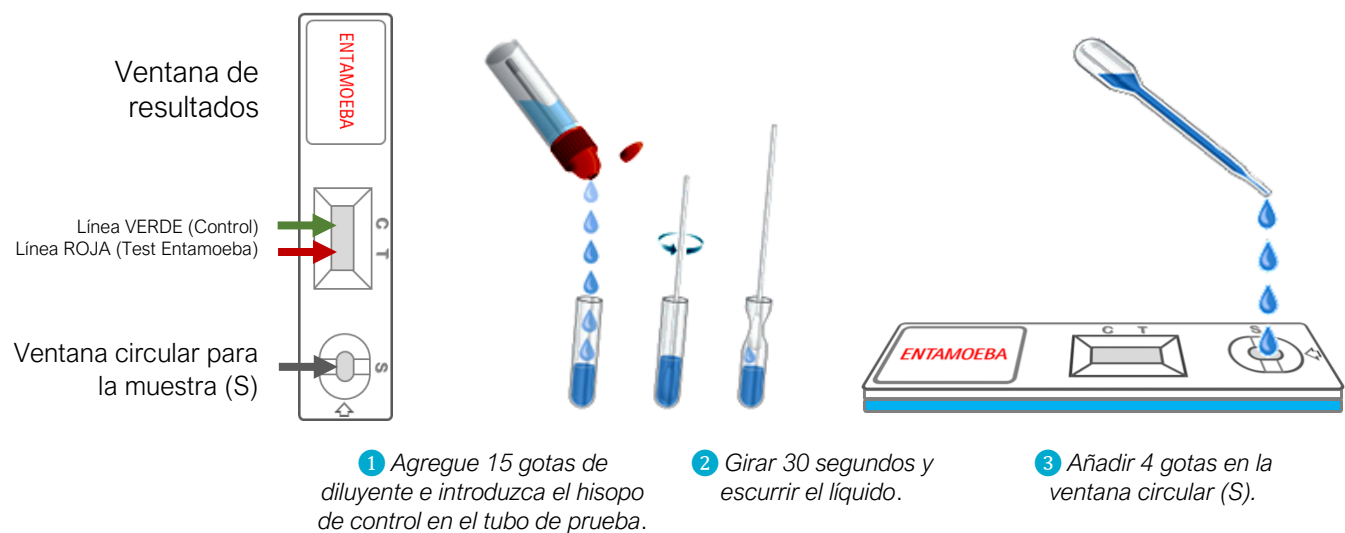
CONTROL POSITIVO: USO PREVISTO & COMPOSICIÓN

biotical Entamoeba Positive Control es un control positivo externo para usar en el test biotical Entamoeba Card. Use este hisopo de control para verificar que los reactivos del kit y la tarjeta de test funcionen correctamente.

biotical Entamoeba Positive Control: antígenos de *Entamoeba* inactivados y secados en un hisopo que contiene un conservante.

CONTROL POSITIVO: PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Deje que los test y los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase del test hasta la realización del ensayo.



- **Añadir 15 gotas de diluyente.** Introduzca el hisopo de control en el tubo de prueba ①.
- Mezcle la solución **girando el hisopo de control** con fuerza contra el lado del tubo de prueba al menos **30 segundos** ②. Escurra tanto líquido como sea posible del hisopo, presionando los lados del tubo de prueba a medida que se retira el hisopo. Descartar el hisopo.
- Retire la tarjeta de test biotical correspondiente de su bolsa sellada justo antes de usarlo.
- Use una pipeta y prueba separada para cada control. **Dispense 4 gotas** desde el tubo de prueba en la ventana circular marcada con la letra S ③.
- **Lea el resultado a 10 minutos.** Los resultados no serán válidos transcurridos 10 minutos.

CONTROL POSITIVO: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	<p>C = LÍNEA VERDE T = LÍNEA ROJA</p>	<p>RESULTADO: CONTROL POSITIVO</p> <p>Una línea VERDE (C) y una línea ROJA (T) aparecen en la ventana Resultados debido a la presencia de los antígenos en el hisopo de control positivo.</p>
2		<p>RESULTADO NO VÁLIDO</p> <p>Ausencia total de la línea de control (VERDE), importar si aparece o no la línea de test (ROJA), o bien aparece únicamente la línea de control.</p> <p>Procedimientos incorrectos o deterioro de los reactivos son las razones principales por las que puede no aparecer la línea de control. Revise el procedimiento y repita el control con una nueva tarjeta de test y un nuevo hisopo de control positivo.</p>

CONTROL NEGATIVO: USO PREVISTO & COMPOSICIÓN

biotical Negative Control es un control de calidad externo para todas las pruebas inmunocromatográficas fabricadas por biotical. Use este hisopo de control para verificar que los reactivos de extracción y la prueba funcionen correctamente.

biotical Negative Control está fabricado con tampón de control negativo secado en hisopo, contiene un conservante.

CONTROL NEGATIVO: PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Deje que los test y los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase del test hasta la realización del ensayo.

Ventana de resultados

ENTAMOEBEA



Línea VERDE (Control)
Línea ROJA (Test Entamoeba)

Ventana circular para la muestra (S)

- 1 Agregue 15 gotas de diluyente e introduzca el hisopo de control en el tubo de prueba.
- 2 Girar 30 segundos y escurrir el líquido.
- 3 Añadir 4 gotas en la ventana circular (S).

- **Añadir 15 gotas de diluyente.** Introduzca el hisopo de control en el tubo de prueba **1**.
- Mezcle la solución **girando el hisopo de control** con fuerza contra el lado del tubo de prueba al menos **30 segundos** **2**. Escurra tanto líquido como sea posible del hisopo, presionando los lados del tubo de prueba a medida que se retira el hisopo. Descartar el hisopo.
- Retire la tarjeta de test biotical correspondiente de su bolsa sellada justo antes de usarlo.
- Use una pipeta y prueba separada para cada control. **Dispense 4 gotas** desde el tubo de prueba en la ventana circular marcada con la letra S **3**.
- **Lea el resultado a 10 minutos.** Los resultados no serán válidos transcurridos 10 minutos.

CONTROL NEGATIVO: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

	biotical Test	Interpretación de los resultados.
1	 <p>C = LÍNEA VERDE T = NO HAY LÍNEA</p>	<p>RESULTADO: CONTROL NEGATIVO</p> <p>Solo aparece la línea de control (C) en la ventana de resultados durante la prueba.</p>
2		<p>RESULTADO NO VÁLIDO</p> <p>La ausencia total de la línea de control, y/o aparición de la línea de test. Técnicas de procedimiento incorrectas o deterioro de los reactivos son las razones principales de que no aparezca la línea de control.</p> <p>Revise el procedimiento y repita el control con una nueva prueba y un nuevo hisopo de control negativo.</p>

LIMITACIONES DEL PRESENTE TEST

- El test debe ser realizado como máximo hasta 2 horas después de haber abierto la bolsa que lo contiene.
- Utilizar únicamente muestras frescas o muestras frescas congeladas sin conservantes ni fijadores.
- Un exceso de muestra de heces puede dar resultados erróneos, dando líneas no muy definidas de color pardo, que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- La intensidad de la línea del test puede variar desde muy fuerte a alta concentración de antígenos a débil cuando la concentración de antígenos está cerca del valor del límite de detección del test.
- Después de una semana de infección la presencia de parásitos eliminados en heces disminuye considerablemente por lo que es probable una menor concentración en la muestra. Se debe tomar la muestra de heces dentro de la primera semana de aparición de los síntomas.
- Este test debería utilizarse sólo con muestras de heces humanas. El uso de otras muestras no ha sido determinado. La calidad del test depende de la calidad de la muestra; por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras fecales.
- Los resultados positivos determinan la presencia de *Entamoeba histolytica* y/o *E. dispar* en muestras de heces; sin embargo, un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas de laboratorio (métodos bioquímicos o por microscopía). La infección debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, tras evaluar las pruebas clínicas y los hallazgos de laboratorio teniendo en cuenta la correlación que puede existir con todas las observaciones clínicas.

- Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que la concentración de antígenos en la muestra de heces sea inferior al valor del límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, para la determinación de *Entamoeba histolytica* y/o *E. dispar*, se debería realizar con otra técnica (por ejemplo, microscopía).
- Las muestras de heces sanguinolentas contienen componentes que podrían causar reacciones inespecíficas en el test. Toda muestra sanguinolenta cuyo resultado es positivo debe confirmarse con otras técnicas.
- Muestra de heces mucosas podrían provocar reacciones inespecíficas en el test. Toda muestra de heces mucosas cuyo resultado sea positivo debería ser contrastado con otras técnicas diagnósticas para confirmar el resultado.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sensibilidad clínica y especificidad

Se llevó a cabo una evaluación, con muestras de heces, comparando los resultados obtenidos por un test inmunocromatográfico (biotical Entamoeba, biotical) y otros tests qPCR comercializado (VIASURE Entamoeba histolytica Real Time Detection Kit and VIASURE Entamoeba dispar Real Time Detection Kit, Certest).

Los resultados fueron los siguientes:

		qPCR test: VIASURE Entamoeba Histolytica Real Time detection Kit		
		+	-	Total
Biotical Entamoeba Card	+	4	1	5
	-	1	107	108
	Total	5	108	113

<i>Biotical Entamoeba Card vs VIASURE Entamoeba Histolytica Real Time detection Kit</i>	VALOR MEDIO E. histolytica	95% INTERVALO DE CONFIANZA
SENSIBILIDAD	80.0%	28.4 - 99.5%
ESPECIFICIDAD	99.1%	94.9 - 100%
VPP	80.0%	35.1 - 96.7%
VPN	99.1%	94.9 - 99.8%
PRECISIÓN	98.2%	93.8 - 99.8%



		qPCR test: VIASURE Entamoeba Dispar Real Time detection Kit		
		+	-	Total
Biotical Entamoeba Card	+	15	1	19
	-	6	107	113
	Total	21	108	129

<i>Biotical Entamoeba Card vs VIASURE Entamoeba Dispar Real Time detection Kit</i>	VALOR MEDIO E. dispar	95% INTERVALO DE CONFIANZA
SENSIBILIDAD	71.4%	47.8 - 88.7%
ESPECIFICIDAD	99.1%	95.0 - 100%
VPP	93.8%	67.7 - 99.1%
VPN	94.8%	90.2 - 97.3%
PRECISIÓN	94.6%	89.2 - 97.8%

		qPCR test: VIASURE Entamoeba Histolytica Real Time detection Kit + VIASURE Entamoeba Histolytica Real Time detection Kit		
		+	-	Total
Biotical Entamoeba Card	+	19	2	21
	-	7	214	221
	Total	26	216	242

<i>Biotical Entamoeba Card vs VIASURE Entamoeba Histolytica Real Time detection Kit + VIASURE Entamoeba Histolytica Real Time detection Kit</i>	VALOR MEDIO E. histolytica + E. dispar	95% INTERVALO DE CONFIANZA
SENSIBILIDAD	73.1%	52.2 - 88.4%
ESPECIFICIDAD	99.1%	96.7 - 99.9%
VPP	90.5%	70.1 - 97.5%
VPN	96.8%	94.2 - 98.3%
PRECISIÓN	96.3%	93.1 - 98.3%

Los resultados mostraron que biotical Entamoeba Card presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar*.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de biotical Entamoeba Card; no se detectó reacción cruzada con patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces:

Campylobacter jejuni

Campylobacter coli

Clostridium difficile

Escherichia coli O157:H7

Cryptosporidium Parvum

Giardia lamblia

Helicobacter pylori

Listeria monocytogenes

Salmonella enteritidis

Salmonella paratyphi

Salmonella typhi

Salmonella typhimurium

Shigella boydii

Shigella dysenteriae

Shigella flexneri

Shigella sonnei

Staphylococcus aureus

SÍMBOLOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS DE IVD



Producto para diagnóstico *in vitro*



Consultar las instrucciones de uso



Almacenar en lugar seco



Fecha de caducidad



Limitación de temperatura



Fabricante



Contiene <n> test

DIL

Diluyente de muestra

LOT

Número de lote

REF

Número de referencia

REFERENCES / BIBLIOGRAFÍA /

BLESSMANN J., et al. "Longitudinal Study of Intestinal Entamoeba histolytica Infections in Asymptomatic Adult Carriers". Journal of clinical microbiology, Oct. 2003, p. 4745–4750 Vol. 41, No. 10.

GONIN P., et al. "Detection and Differentiation of Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar Isolates in Clinical Samples by PCR and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay". Journal of clinical microbiology, Jan. 2003, p. 237–241 Vol. 41, No. 1



Sierra de Guadarrama, 1. Ed. Dublín
28830 San Fernando de Henares. Madrid
Tel.: + 34 91 677 43 08

info@biotical.es
www.biotical.es



biotical health S.L.U.

