
CERTEST

Entamoeba

ONE STEP
Entamoeba CARD TEST

CERTEST BIOTEC S.L.





CERTEST *Entamoeba*

One Step test to detect *Entamoeba* in card format/
Prueba de un solo paso para detección de *Entamoeba* en formato cassette

ENGLISH

INTENDED USE

CerTest *Entamoeba* one step card test is a coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in stool samples.

CerTest *Entamoeba* card test offers a simple and a highly sensitive screening assay to make a presumptive diagnosis of amoebiasis.

INTRODUCTION

Entamoeba histolytica, *E. dispar*, and *E. moshkovskii* are morphologically identical but biochemically and genetically different. These parasites colonize the human gut, but only *E. histolytica* is thought to be capable of causing disease.

Amoebiasis is the infection of the human gastrointestinal tract by *Entamoeba histolytica*, a protozoan parasite that is capable of invading the intestinal mucosa and may spread to other organs, mainly the liver. The acceptance of *E. dispar* as a distinct but closely related protozoan species has had profound implications for the epidemiology of amoebiasis, since most asymptomatic infections found worldwide are now attributed to this noninvasive amoeba. Roughly, 90% of people infected with *Entamoeba* infections have *E. dispar*.

The disease may manifest itself as an acute, chronic or as an asymptomatic infection. The leading symptom is dysentery whose main consequence one galling of the colon, diarrhoea and abdominal pain. Complications of the disease may be hepatic abscesses, pulmonary abscesses or even cerebral abscesses which, if untreated, usually end in death.

Infection occurs by water pollution, vegetables, raw fruits and other food or poorly cooked or washed with infective cysts from contaminated faeces. It is possible that flies and cockroaches carrying cysts from faeces to food

Amoebic dysentery occurs frequently in tropical countries but are also cases in temperate and cold areas. In Africa, tropical Asia and Latin America, more than two thirds of the population has these intestinal parasites, although most can be virtually asymptomatic infections.

TEST PRINCIPLE

CerTest *Entamoeba* is based on the principle of a qualitative immunochromatographic assay for the determination of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* in stool samples.

The strip consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against *Entamoeba* and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-*Entamoeba*) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming coloured conjugate complexes.

If the sample is positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugate complex (anti-*Entamoeba* monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres), which was previously pre-dried on the absorbent pad. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the binding conjugate complexes migrate. The anti-*Entamoeba* antibodies present on the membrane (test line) capture the coloured conjugate and the red line will be visible. This band is used to interpret the result.

If the sample is negative, there is no *Entamoeba* antigens presence and yet, the antigens may be present in a concentration lower than the detection limit value, for which the reaction will not take place with the red-coloured conjugate complex. The anti-*Entamoeba* antibodies present on the membrane (test line) will not capture the antigen-red-coloured conjugate complex (not formed), for which the red line will not appear.

Whether the sample is positive or not, the mixture continues to move across the membrane to the immobilized specific antibodies placed in the control line. The anti-specific protein antibodies present on the membrane will capture control green-conjugate complex and the control line will always appears. The presence of this green line serves as: 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) an internal control for the reagents.

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.

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 tests 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 CerTest *Entamoeba* test. Do not use any other commercial kit component.



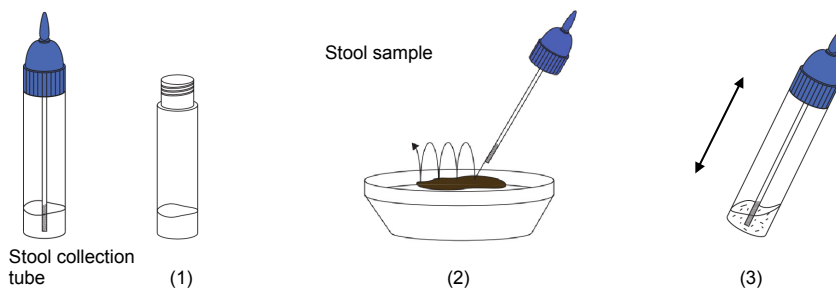
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.

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 at -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.

Specimen preparation (see illustration):

1. Take out the cap of the stool collection tube (1) and use the stick to pick up sufficient sample quantity. Then, introduce the stick once into 4 different parts of the stool sample (2), to collect faecal sample (approx. 125mg) and add it to the stool collection tube. For liquid samples, add approx. 125µL in the stool collection tube using a micropipette.
2. Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion (3).



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

MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- CerTest *Entamoeba* card tests
- Instructions for use
- Stool collection tubes with diluent

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

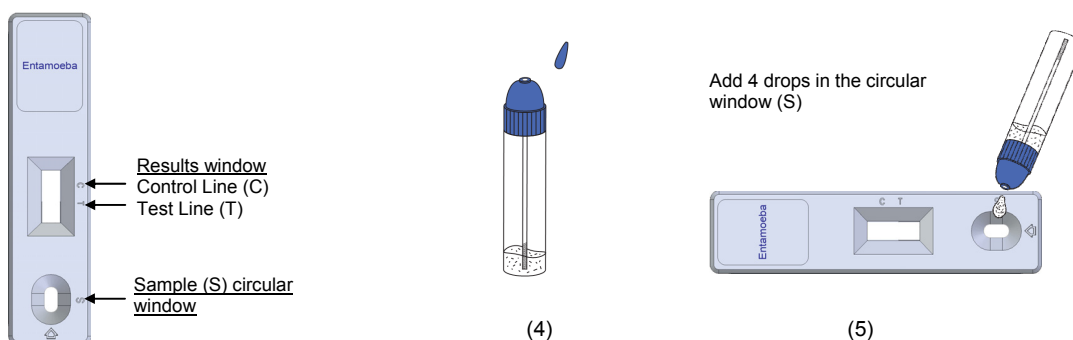
- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

TEST PROCEDURE

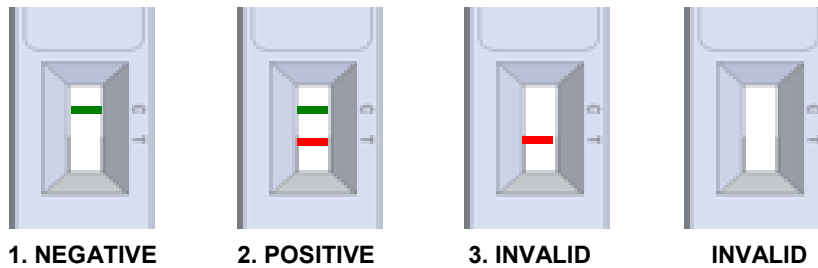
Allow tests, stool samples and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until the performance of the assay.

1. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion.
2. Remove CerTest *Entamoeba* card test from its sealed bag just before using it.
3. Take the stool collection tube, cut the end of the cap (4) and dispense 4 drops in the circular window marked with the letter S (5). Avoid adding solid particles with the liquid.
4. **Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 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)



	<i>Entamoeba</i>	Interpretation of the results
1.	- GREEN	There is no <i>Entamoeba histolytica</i> or <i>E. dispar</i> presence. No infection caused by <i>Entamoeba histolytica</i> or <i>E. dispar</i> .
2.	+ GREEN-RED	There is <i>Entamoeba histolytica</i> or <i>E. dispar</i> presence. Infection caused by <i>Entamoeba histolytica</i> or <i>E. dispar</i> .
3.	Any other result	Invalid result, we recommend repeating the assay using the same sample with another test.

NEGATIVE: Only the GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control 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.

INVALID: Total absence of the control coloured line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED). 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 symptoms or situation still persist, 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 window 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 is an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed bag.
2. Only fresh or fresh-frozen unpreserved and unfixed stool samples can be tested.
3. An excess of sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the diluent and repeat the test.
4. 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.
5. CerTest *Entamoeba* 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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).

EXPECTED VALUES

Entamoeba histolytica is the third main cause of morbidity and mortality due to parasitic disease in humans after malaria and schistosomiasis. It is estimated that *E. histolytica* and *E. dispar* parasitize approximately 10% of the world population, of which 90% are asymptomatic infections. About between 50000 and 100000 deaths every year are due to this disease.

In developed countries, amoebiasis tends to be more common in older and immunodepressed individuals. However, in tropical regions, the epidemiology of amoebiasis is completely different and is more common among the general population and particularly among patients attending health care centres with diarrhoea.

Out of 10% of the world's population infected by *E. histolytica*, only 1% develops invasive form of the disease. Only approximately 10% (pathogenic infections) need to be treated. In developed countries, *E. histolytica* infection is not endemic and occurs mostly after traveling to areas of endemicity.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Clinical sensitivity and specificity

An evaluation was performed, using faecal samples, comparing the results obtained by an immunochromatographic test (CerTest *Entamoeba*, CerTest) 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 <i>Entamoeba histolytica</i> Real Time Detection Kit		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Entamoeba</i>	+	4	1	5
	-	1	107	108
	Total	5	108	113

	Mean Value <i>E. histolytica</i>	95% confidence interval
Sensitivity	80%	28.4 - 99.5%
Specificity	99%	94.9 - 100%
PPV	80%	28.4 - 99.5%
NPV	97%	94.9 - 100%

		qPCR test: VIASURE <i>Entamoeba dispar</i> Real Time Detection Kit		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Entamoeba</i>	+	15	1	16
	-	6	107	113
	Total	21	108	129

	Mean Value <i>E. dispar</i>	95% confidence interval
Sensitivity	71%	47.8 - 88.7%
Specificity	99%	94.9 - 100%
PPV	94%	69.8 - 99.8%
NPV	95%	88.8 - 98.0%

CERTEST *Entamoeba*

One Step test to detect *Entamoeba* in card format/
Prueba de un solo paso para detección de *Entamoeba* en formato cassette

		qPCR test: VIASURE <i>Entamoeba histolytica</i> Real Time Detection Kit and VIASURE <i>Entamoeba dispar</i> Real Time Detection Kit		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Entamoeba</i>	+	19	2	21
	-	7	214	221
	Total	26	216	242

	Mean Value <i>E. histolytica</i> + <i>E. dispar</i>	95% confidence interval
Sensitivity	73%	52.2 - 88.4%
Specificity	99%	96.7 - 100%
PPV	90%	69.6 - 98.8%
NPV	97%	93.6 - 98.7%

The results showed a high sensitivity and specificity to detect *Entamoeba histolytica* and *E. dispar* using CerTest *Entamoeba*.

Cross reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of CerTest *Entamoeba*; no cross reactivity against gastrointestinal pathogens occasionally present in faeces:

<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Giardia lamblia</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	

The logo for CerTest BIOTEC is centered on the page. It consists of a solid blue circle. Inside the circle, the word "CerTest" is written in a white, sans-serif font. The "C" is a standard uppercase letter, while the "T" is a stylized, taller uppercase letter. Below "CerTest", the word "BIOTEC" is written in a smaller, white, all-caps, sans-serif font.

CerTest
BIOTEC

ESPAÑOL**USO PREVISTO**

CerTest *Entamoeba* card test es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de *Entamoeba histolytica* y *E. dispar* en muestras de heces.

CerTest *Entamoeba* card test ofrece un ensayo de cribado sencillo y de alta sensibilidad para realizar un diagnóstico presuntivo de amebiasis.

INTRODUCCIÓN

Entamoeba histolytica, *E. dispar* y *E. moshkovskii* son morfológicamente idénticas por el contrario bioquímica y genéticamente distintas. Estos parásitos colonizan el intestino delgado, aunque únicamente *E. histolytica* es capaz de causar enfermedad.

La amebiasis es la infección del tracto gastrointestinal en humanos causada por *Entamoeba histolytica*, un parásito protozoa que es capaz de invadir la mucosa intestinal además de extenderse a otros órganos, principalmente el hígado. La aceptación de *E. dispar* como una especie protozoa distinta pero muy cercana tiene una gran implicación en la epidemiología de la amebiasis, ya que la mayoría de infecciones asintomáticas identificadas en el mundo ahora son atribuidas a la ameba no invasiva. El 90% de las personas infectados con *Entamoeba* presentan *E. dispar*.

La enfermedad puede manifestarse por si misma como aguda, crónica o como una infección asintomática. El síntoma principal es la disentería cuya principal consecuencia es molestia en el colon (irritación), diarrea y dolor abdominal. Existen algunas complicaciones de la enfermedad que se manifiestan como abscesos hepáticos, pulmonares o incluso cerebrales, los cuales si no se tratan pueden derivar en muerte.

La infección se da en aguas contaminadas, verduras y frutas frescas u otro alimento poco cocinado o lavado que presente quistes a partir de heces contaminadas. También es posible que a través de moscas o cucarachas se transporten los quistes de las heces a los alimentos.

La disentería amebótica se da frecuentemente en países tropicales pero también pueden aparecer casos en zonas frías o más templadas. En África, Asia tropical y Latinoamérica, más de dos terceras partes de la población tiene estos parásitos intestinales, aunque la mayoría serán infecciones asintomáticas.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest *Entamoeba* es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de *Entamoeba histolytica* y *E. dispar* en muestras de heces.

La membrana de nitrocelulosa ha sido fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Entamoeba* en la línea de test (T) en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Entamoeba*) conjugada 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.

Si la muestra es positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-*Entamoeba*-microesferas rojas de látex) el cual ha sido secado previamente en el material absorbente. Esta mezcla avanza 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 membrana (línea de test) capturarán el complejo coloreado del test y la línea roja aparecerá. Esta línea se usará para la interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no presenta antígenos de *Entamoeba* o los antígenos están presentes en una concentración inferior al límite de detección y no se produce reacción con el complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-*Entamoeba* presentes en la membrana (línea de test) no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerá la línea roja.

Independientemente de que la muestra sea positiva o no, la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en la línea de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control y la línea de control verde siempre aparecerá. La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado y 3) como control interno de los reactivos.

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

- 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.

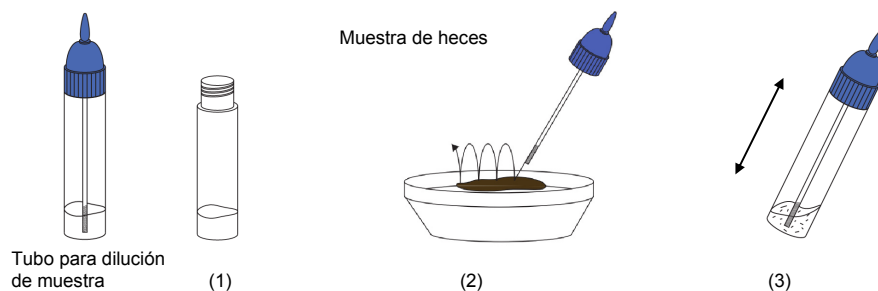
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con CerTest *Entamoeba* test. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se deben conservar en frío (2-8°C), máximo durante 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. 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):

1. Abrir el tubo para dilución de muestra (1) 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 (2), tomando una cantidad de heces (aprox. 125mg) y posteriormente se introducirá la muestra en el tubo para dilución de muestra. Para muestras líquidas, añada aprox. 125µL en el tubo para dilución de muestra utilizando una micropipeta.
2. Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra (3).



MUY IMPORTANTE: Utilizar únicamente muestras frescas o muestras frescas congeladas sin conservantes ni fijadores.

MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest *Entamoeba* card tests
- Instrucciones de uso
- Tubos para dilución de muestra con diluyente

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para recogida de muestras
- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO

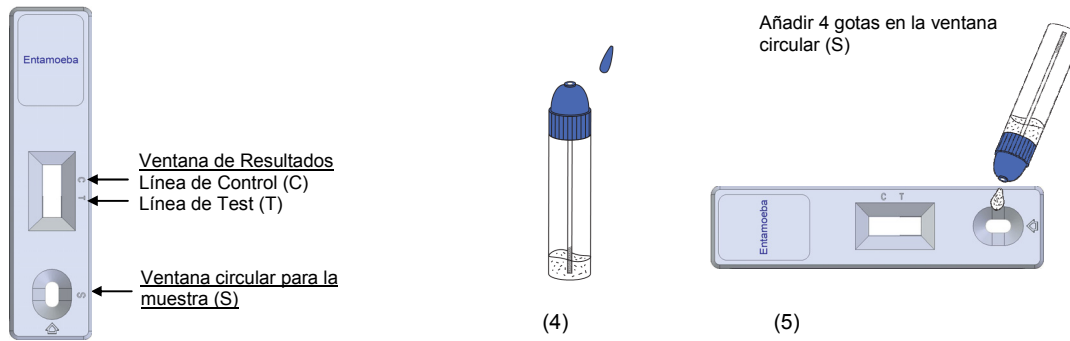
Previamente los tests, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir los envases hasta el momento de la prueba.

1. Agitar el tubo para dilución de muestra para asegurar una buena dispersión.
2. Sacar el test CerTest *Entamoeba* de su envase antes de utilizarlo.
3. Tomar el tubo para dilución de muestra, cortar la punta del tapón (4) y añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra S (5), evitando añadir partículas sólidas con el líquido.
4. **Leer el resultado a los 10 minutos.** No leer el resultado superados los 10 minutos.

Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas, agitar con el palito del vial 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.

CERTEST *Entamoeba*

One Step test to detect *Entamoeba* in card format/
Prueba de un solo paso para detección de *Entamoeba* en formato cassette



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS (por favor, fíjese en el siguiente dibujo)



	<i>Entamoeba</i>	Interpretación de resultados
1.	- VERDE	No hay presencia de <i>Entamoeba histolytica</i> o <i>E. dispar</i> . No hay infección causada por <i>Entamoeba histolytica</i> o <i>E. dispar</i> .
2.	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de <i>Entamoeba histolytica</i> o <i>E. dispar</i> . Hay infección causada por <i>Entamoeba histolytica</i> o <i>E. dispar</i> .
3.	Cualquier otro resultado	Resultado inválido, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.

NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana de resultados del test, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA en la zona marcada con la letra T (línea de test) en la ventana de resultados.

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece, independientemente de que aparezca o no la línea de test (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: un volumen insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test. Si los síntomas o la situación persisten, debe dejar de utilizar la prueba y contactar con su distribuidor.

OBSERVACIONES

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 antígenos presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. 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.

LIMITACIONES

1. Una vez abierto, el test no debe usarse después de 2 horas.
2. Utilizar únicamente muestras frescas o muestras frescas congeladas sin conservantes ni fijadores.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. CerTest *Entamoeba* 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.
7. 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.
8. 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).

VALORES ESPERADOS

Entamoeba histolytica es la tercera causa principal de mortalidad debido a una infección parasitaria después de malaria y esquistosomiasis. Se estima que *E. histolytica* y *E. dispar* infectan aproximadamente a un 10% de la población mundial, de los cuales el 90% presentan infecciones asintomáticas. Alrededor de 50000-100000 muertes al año son debidas a esta enfermedad.

En países desarrollados, la amebiasis tiene predisposición por personas mayores o inmunodeprimidas. Sin embargo, en zonas tropicales, la epidemiología de la amebiasis es completamente distinta y es bastante común dentro de la población en general y en pacientes que acuden a los centros de salud con cuadro diarreico.

Dentro del 10% de la población que se encuentra infectada con *E. histolytica*, únicamente el 1% de la población desarrolla la forma invasiva de la enfermedad. Sólo el 10% (de las infecciones patógenas) necesitan ser tratadas. En los países desarrollados, la infección por *E. histolytica* no es endémica y suele presentarse después de haber visitado zonas endémicas en esta enfermedad.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad y especificidad clínica

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

		qPCR test: VIASURE <i>Entamoeba histolytica</i> Real Time Detection Kit		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Entamoeba</i>	+	4	1	5
	-	1	107	108
Total		5	108	113

	Valor Medio <i>E. histolytica</i>	95% intervalo de confianza
Sensibilidad	80%	28.4 - 99.5%
Especificidad	99%	94.9 - 100%
VPP	80%	28.4 - 99.5%
VNP	97%	94.9 - 100%

CERTEST *Entamoeba*

One Step test to detect *Entamoeba* in card format/
Prueba de un solo paso para detección de *Entamoeba* en formato cassette

		qPCR test: VIASURE <i>Entamoeba dispar</i> Real Time Detection Kit		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Entamoeba</i>	+	15	1	16
	-	6	107	113
	Total	21	108	129

	Valor Medio E. <i>dispar</i>	95% intervalo de confianza
Sensibilidad	71%	47.8 - 88.7%
Especificidad	99%	94.9 - 100%
VPP	94%	69.8 - 99.8%
VNP	95%	88.8 - 98.0%

		qPCR test: VIASURE <i>Entamoeba histolytica</i> Real Time Detection Kit and VIASURE <i>Entamoeba dispar</i> Real Time Detection Kit		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Entamoeba</i>	+	19	2	21
	-	7	214	221
	Total	26	216	242

	Valor Medio E. <i>histolytica</i> +E. <i>dispar</i>	95% intervalo de confianza
Sensibilidad	73%	52.2 - 88.4%
Especificidad	99%	96.7 - 100%
VPP	90%	69.6 - 98.8%
VNP	97%	93.6 - 98.7%

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

Reacciones cruzadas










Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas del test CerTest *Entamoeba*; no se detectó reacción cruzada con patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces:

<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Giardia lamblia</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	

REFERENCES/BIBLIOGRAFÍA

1. 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.
2. 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.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS/SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

 IVD	<i>In vitro</i> diagnostic device Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Keep dry Almacenar en lugar seco	 Use by Fecha de caducidad	 Manufacturer Fabricante	 LOT	Batch code Número de lote
 Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso	 Temperature limitation Limitación de temperatura	 Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test	DIL	Sample diluent Diluyente de muestra	 REF	Catalogue number Número de referencia



CerTest
BIOTEC S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1,
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es

