



ENTAMOEBA CELISA PATH

INTENDED USE AND PRINCIPLE OF THE TEST

The Entamoeba CELISA Path test is an enzyme immunoassay for the rapid detection of the adhesin of *E. histolytica* in human faecal specimens. The Entamoeba CELISA Path test uses antibodies to the adhesin of the organism. The microtitre wells in the kit contain immobilised polyclonal antibody that binds adhesin. The conjugate is a monoclonal antibody specific for the adhesin of *E. histolytica*. In the assay an aliquot of a faecal specimen is emulsified in the diluent and the diluted specimen is transferred to a microtitre well. If adhesin is present in the specimen, it binds to the conjugate and immobilised polyclonal antibody during the incubation phase. Any unbound material is removed during the washing steps. Following the addition of substrate, a colour is detected due to the enzyme-antibody-antigen complexes that form in the presence of adhesin.

CONTENTS OF THE KIT

EPMW	Celisa Plate – 1x96 wells - (single use only)		1 plate
EPPC	Positive Control	(Black Cap)	3.5mL
EPDL	Diluent	(White Cap)	40mL
EPPO	Enzyme Conjugate	(Red Cap)	7.0mL
EPWB	Wash Buffer Concentrate (20x)	(White Cap)	50mL
EPSA	Substrate	(Blue Cap)	14.0mL
EPSS	Stopping Solution	(Yellow Cap)	7.0mL
	Plastic Adhesive Sheets		1
	Resealable Bag		1

Store all components at 2-8°C. Expiry dates are clearly marked on each kit component and on the box. Expiry dates do not change once opened.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Distilled water for diluting wash reagent; 1L bottle for diluting wash reagent; Squirt bottle for wash reagent; Test tubes; Applicator sticks; Micropipettes with disposable tips; Vortex mixer; Timer; Discard container and absorbent paper; Spectrophotometer capable of reading absorbance of EIA plates at 450nm or 450/620nm.

PRECAUTIONS

For in vitro diagnostic use only. Reagents should not be used after the expiry date shown on the label. If protective packaging is damaged, contact your local distributor and ask for a replacement. Do not mix reagents from different kits. Caps and tips are colour coded, do not mix. When handling assay wells; avoid scratching the bottom of the wells as this may result in elevated absorbance readings. Thimerosal preservative added to some components is a poison. Exercise caution when handling these components. The stopping solution is corrosive. Avoid contact with skin, eyes and mucous membranes. Dispense all reagents with care to avoid cross contamination of wells. Avoid exposure of the substrate to light. The positive control has been shown to be non-infectious in tissue culture; however it should be handled as though potentially infectious. Treat all clinical and control material as though potentially infectious and dispose of in accordance with local operating regulations. For further information, please refer to the Material Safety Data Sheet.

INSTRUCTIONS FOR USE

Preparation of Wash Buffer

If crystals are present in the concentrate, warm to dissolve. Prepare working strength **WASH BUFFER** by adding 50mL of **EPWB** to 950mL of distilled water. Label the bottle and store at 2-8°C.

Specimen Collection and Preparation

Standard stool specimen collection and handling procedures for culture are appropriate. **Do not use specimens that have been collected or stored in 10% formalin, SAF, or PVA fixatives.** Stool specimens that are in transport media such as Cary Blair or C&S may be used; however, these samples arrive at a 1:5 dilution and must be assayed straight from the container and not diluted in **EPDL**. Specimens should be transported as soon as possible and stored at 2 to 8°C. If possible, test stool specimens which are less than 24 hours old. If the test cannot be performed within 48 hours, store specimens at -20°C or lower. Freezing and thawing of the specimen, especially multiple times, may result in loss of activity due to degradation of the adhesin.

Make sure that specimens are thoroughly mixed prior to performing the assay. This includes complete mixing of the specimen prior to transfer to diluent, as well as complete mixing of the diluted specimen prior to transfer to the microwell. The diluent has been formulated to stabilise the adhesin in faecal specimens and minimise degradation. When test is ready to be performed, dilute samples as follows:

- Set up one vial for each specimen to be tested. Add 0.4mL **EPDL** to each vial. Label the vial directly on the side.
- Thoroughly mix (vortex) the faecal specimen to ensure adequate sampling.
- Formed stools:** use a swab to transfer the faecal specimen to the vial. Coat the swab completely before transferring the specimen. Mix the swab in the **EPDL** to remove as much sample as possible and squeeze the swab against the side of the vial to express any residual liquid. The procedure results in the transfer of approximately 0.15 to 0.20g of specimen. If the swab is not used for formed stools, transfer approximately 0.15 to 0.20g of specimen to the **EPDL**.
- Liquid stools:** use a plastic pipette to transfer 0.4ml specimen to vial. Make sure the liquid specimens are evenly suspended before transferring.
- Vortex the vials for 10 seconds and store at 2 to 8°C until the ELISA is performed. Diluted specimens (**SAMPLE**) should be used within 5 hours of preparation. Vortex again before transferring **SAMPLE** to microtitre well. This ensures thorough mixing of the specimen.

Assay Procedure

- Bring all reagents to room temperature (18-25 °C) before use.
- Prepare **WASH BUFFER** (see Preparation of Wash Buffer)
- Remove required number of **EPMW** strips. Reseal the foil bag containing unused microwell strips immediately with tape.
- Add 1 drop of **EPPO** (red cap) to a positive control well, negative control well and patient sample well. Hold the conjugate vial vertically when adding the drops. Identification marks may be written directly on side of well.
- Two (2) control wells must be used each time the test is performed. Add one (1) drop of the positive control **EPPO** to the positive control well and 0.1mL of diluent **EPDL** to the negative control well. Add 0.2mL of **SAMPLE** to the test well(s). Change pipette tips between all samples and controls. Cover the wells and incubate at room temperature for two (2) hours.
- Shake out the contents of the assay wells. Wash the wells by using the **WASH BUFFER** in a squirt bottle with fine-tipped nozzle, directing the wash buffer to the bottom of the well with force. Fill the wells, and then shake the wash buffer out. Bang the inverted plate on a dry paper towel and repeat the washing step another three (3) times. If any particulate matter is in the wells continue to wash until it is removed.
- After washing, bang dry (until no liquid comes out) and dispose of paper towels and specimen containers.
- Dispense two (2) drops of substrate **EPSA** (blue cap) to each well. Gently tap the wells to mix the substrate. Incubate for ten (10) minutes at room temperature in the dark. Tap the wells two (2) or three (3) times during incubation to mix the contents. Observe the blue colour formation.
- Dispense one (1) drop of stopping solution **EPSS** (yellow cap) to each well. The addition of the stop solution changes the colour of the wells from blue to yellow.
- Quantitate the results by measuring the absorbance in a spectrophotometer at a wavelength of 450nm (reference 620nm on dual wavelength reader). The instrument should be blanked against air. Wipe the underside of each well before measuring the optical density. Plates should be read within 10 minutes of stopping the reaction.

If a spectrophotometer is unavailable, the test may be read visually in good light against a white background (such as a sheet of paper)

READING AND INTERPRETATION OF RESULTS AND DIAGNOSIS

Visually

Negative: Any sample that is not obviously more yellow than the negative control well.

Positive: Any sample that is obviously more yellow than the negative control well.

Note: The negative control, as well as some test wells, may show some slight yellow colour. A sample well must be obviously darker than the negative control well to be called a positive result.

Photometrically

	450nm	450/620nm
Negative Sample & Negative Control	OD ₄₅₀ < 0.150	OD _{450/620} < 0.090
Positive Sample	OD ₄₅₀ ≥ 0.150	OD _{450/620} ≥ 0.090
Positive Control (once negative control value has been subtracted)	OD ₄₅₀ ≥ 0.050	

Values for positive and negative control must be within range for the test to be valid.

A positive test result indicates that *E.histolytica* adhesin is present in the faecal specimen. A negative result indicates that *E.histolytica* adhesin is not present in the faecal specimen.

WASTE DISPOSAL

Dispose of any unused components as biohazardous waste. For more information, please refer to the MSDS.

SENSITIVITY, SPECIFICITY, & OTHER DATA ON THE ENTAMOEBIA CELISA PATH

Refer to summary table at end of insert. All data on the Entamoeba CELISA Path can be obtained in the product information sheet. Please ask your local distributor or contact Cellabs.

INDEMNITY NOTICE

Modifications or changes made in the recommended procedure may affect the stated or implied claims. A positive or negative result does not preclude the presence of other underlying causative agents. Cellabs and its agents and distributors shall not be liable for damages under these circumstances



ENTAMOEBIA CELISA PATH

Français

PRINCIPE DU TEST ET INDICATIONS D'EMPLOI

La trousse Entamoeba CELISA Path est un test qualitatif immuno enzymatique *in vitro* pour la détection de l'adhésine de *Entamoeba histolytica* dans les échantillons fécaux humains. La trousse Entamoeba CELISA Path utilise des anticorps anti-adhésine de l'organisme. Un anticorps polyclonal anti-adhésine est immobilisé sur les micropuits. Le conjugué est un anticorps monoclonal spécifique de l'adhésine de *E. histolytica*. Dans le dosage, un échantillon de matière fécale est émulsifié dans le diluant et le spécimen dilué est ajouté au micropuits. L'adhésine présente dans le spécimen se lie au conjugué et à l'anticorps polyclonal immobilisé durant la phase d'incubation. Tout matériel non lié est retiré lors de l'étape de lavage. Après addition du substrat, une couleur bleue permet de détecter les complexes enzyme anticorps antigène formés en présence d'adhésine.

COMPOSITION DU COFFRET

EPMW	Plaque CELISA – 1x96 micropuits - (usage unique)	1 plaque
EPPC	Contrôle positif (Bouchon noir)	3.5mL
EPDL	Diluant (Bouchon blanc)	40mL
EPPO	Conjugué enzymatique (Bouchon rouge)	7.0mL
EPWB	Tampon lavage concentré (20x) (Bouchon blanc)	50mL
EPSA	Solution substrat (Bouchon bleu)	14.0mL
EPSS	Solution d'arrêt (Bouchon jaune)	7.0mL
	Feuille de plastique adhésive	1
	Sac rescellable	1

Conserver tous les composants à 2-8°C. Les dates de péremption sont clairement marquées sur chaque composant et sur le coffret de la trousse. L'ouverture n'altère pas les dates de péremption.

MATERIELS REQUIS NON FOURNIS

Eau distillée pour diluer le réactif de lavage ; Bouteille d'1 l pour le réactif de lavage dilué ; Bouteille de rinçage en plastique pour le réactif de lavage ; Tubes à essai ; Applicateurs de prélèvement ; Micropipette à embouts jetables ; Mélangeur vortex ; Chronomètre temporisateur ; Récipients pour déchets et papier absorbant ; Spectrophotomètre à plaques ELISA capable de lire à 450 nm.

PRECAUTIONS

Produit à usage uniquement *in vitro*. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Si l'emballage est abîmé, contactez votre fournisseur local pour un remplacement. Ne pas mélanger les réactifs de coffrets différents. Les bouteilles et leur bouchons utilisent un code couleur : ne pas les mélanger. Lors de la manipulation des puits de dosage, évitez d'érafler le fond du puits car cela peut produire une absorbance élevée lors de la lecture. Certains réactifs contiennent du Thimerosal comme préservatif, qui est un poison. Manipulez ces réactifs avec soin. La solution d'arrêt est corrosive. Evitez tout contact avec la peau, les yeux ou les membranes muqueuses. Ajouter les réactifs en évitant tout risque de contamination croisée des puits. Eviter d'exposer le substrat à la lumière. Le contrôle positif a été vérifié comme non infectieux en culture de tissu : manipulez-le néanmoins comme potentiellement infectieux. Les échantillons cliniques doivent être considérés comme potentiellement infectieux et jetés selon les procédures en vigueur. Consultez la fiche de sécurité du produit (notice MSDS) pour plus amples informations.

INSTRUCTIONS D'EMPLOI

Préparation du tampon de lavage

Si des cristaux apparaissent dans le concentré, réchauffer le réactif pour les dissoudre. Préparer la solution de travail du **WASH BUFFER** en ajoutant 50 mL de **EPWB** à 950 mL d'eau distillée. Placer une étiquette sur la bouteille et conserver à 2-8°C.

Collection et préparation des échantillons

Les procédures courantes de collecte et de manipulation des spécimens fécaux sont appropriées. **Ne pas utiliser de spécimen collecté ou préservé sous formol à 10% ou sous SAF ou PVA.** On peut utiliser des spécimens préservés sous liquide de transport tel que Cary Blair ou C&S ; mais ces échantillons arrivent déjà dilués au 1/5^{ème}, doivent être dosés tels qu'ils sont et ne doivent pas être dilués dans **EPDL**. Les spécimens doivent être transportés aussitôt que possible et conservés à 2-8°C. Dosez si possible des échantillons fécaux de moins de 24 heures. Si le dosage ne peut pas être effectué dans les 48 heures, conservez les spécimens à au moins -20°C. Les cycles de congélation et de décongélation des échantillons, surtout à répétition, peuvent résulter en un déclin d'activité du à la dégradation de l'adhésine.

Assurez-vous que les spécimens soient proprement agités avant leur dosage. Ceci implique la remise en suspension du spécimen juste avant le transfert dans le diluant, ainsi que la remise en suspension des spécimens lors du transfert dans les micropuits. Le diluant a été formulé pour stabiliser l'adhésine dans les échantillons fécaux et minimiser leur dégradation. Lorsque vous êtes prêt à effectuer le dosage, diluez les échantillons comme suit:

1. Préparer un tube à essai pour chaque spécimen à tester. Ajouter 0.4 mL de diluant **EPDL** dans chaque tube à essai. Libeller directement la paroi de chaque tube.
2. Mélanger vigoureusement (au mélangeur vortex) le spécimen fécal.

3. **Selles solides** : utiliser un applicateur coton-tige pour transférer le spécimen fécal dans le tube à essai. Imprégner complètement l'applicateur coton-tige avant de transférer le spécimen. Agiter l'applicateur dans le diluant [EPDL] afin d'enlever autant d'échantillon que possible et presser l'extrémité en coton contre la paroi du tube afin d'extraire tout liquide résiduel. Cette procédure produit un transfert d'environ 0.15 à 0.20 g de spécimen. Si l'on n'utilise pas d'applicateur avec les selles solides, transférer environ 0.15 à 0.20 g de spécimen dans le diluant [EPDL].
- Selles liquides** : utiliser une pipette en plastique pour transférer 0.4 mL de spécimen dans le tube à essai.
4. Mélanger les tubes à essai au mélangeur vortex pendant 10 secondes et conserver à 2-8°C jusqu'au dosage ELISA. Les échantillons dilués ([SAMPLE]) sont à utiliser dans les 5 heures suivantes. Mélanger de nouveau au vortex avant le transfert de [SAMPLE] dans le micropuits. Ceci assure un mélange complet de l'échantillon.

Mode D'emploi

- Ramener tous les réactifs à température ambiante (18-25°C) avant l'emploi.
 - Préparer le [WASH BUFFER] (voir Préparation du Tampon de Lavage).
 - Retirer le nombre requis de micropuits [EPMW]. Immédiatement refermer le sac contenant les micropuits restants avec du ruban adhésif.
 - Ajouter 1 goutte de [EPPQ] (bouchon rouge) dans les puits de contrôle positif et négatifs ainsi que dans les puits des échantillons patients. Garder le flacon compte-goutte vertical lors de l'addition des gouttes. Vous pouvez écrire directement au marqueur sur les parois des micropuits.
 - Deux (2) puits de contrôles sont nécessaires dans chaque série de dosage. Ajouter 1 goutte de contrôle positif [EPPC] dans le puits du contrôle positif et 0.1mL de diluant [EPDL] dans le puits du contrôle négatif. Ajouter 0.2 mL de [SAMPLE] dans les puits patients. Changez d'embout pipette jetable entre chaque échantillon patient et contrôle. Couvrir les puits et incuber à température ambiante pendant deux (2) heures.
 - Videz en secouant le contenu hors des micropuits. Lavez les micropuits avec le [WASH BUFFER] à l'aide d'une bouteille de rinçage à embout fin, en dirigeant le jet de tampon de rinçage au fond des puits. Remplissez les micropuits, puis videz en secouant le liquide de lavage hors des puits. Rabattez la plaque inversée sur une serviette en papier et répétez l'étape de lavage trois (3) fois. Continuez l'étape de lavage s'il reste des particules dans les micropuits jusqu'à ce qu'elles soient enlevées.
 - Après le lavage, rabattez la plaque inversée sur une serviette en papier (jusqu'à ce qu'aucun liquide n'en sorte) et jetez la serviette en papier et les flacons des spécimens.
 - Ajouter deux (2) gouttes de Solution de Substrat [EPSA] (bouchon bleu) dans chaque puits. Mélanger en tapant délicatement. Incuber dix (10) minutes à température ambiante dans l'obscurité. Mélanger en tapant délicatement les puits 2 ou 3 fois durant l'incubation. Observer la coloration bleue.
 - Ajouter une (1) goutte de Solution d'Arrêt [EPSS] (bouchon jaune) dans chaque puits. L'addition de Solution d'Arrêt change la couleur des puits du bleu au jaune.
 - Mesurez l'absorbance dans un spectrophotomètre à 450 nm (référence à 620 nm dans un lecteur à double longueur d'onde). Le zéro de l'instrument doit être calibré à l'air. Essayez le dessous des micropuits avant la lecture. Effectuez la lecture des micropuits dans les 10 minutes suivant l'addition de Solution d'Arrêt.
- Si un lecteur ELISA n'est pas disponible, le dosage peut être lu visuellement à la lumière contre un arrière plan blanc (tel qu'une feuille de papier).

LECTURE, INTERPRETATION DES RESULTATS ET DIAGNOSTIQUE

Lecture visuelle

Résultat négatif : Tout échantillon qui n'est pas nettement plus jaune que le puits du contrôle négatif.

Résultat positif : Tout échantillon qui est nettement plus jaune que le puits du contrôle négatif.

Note : Le contrôle négatif, ainsi que certains puits d'échantillons patients, peuvent présenter une légère coloration jaune. Pour être classable comme positif, un échantillon doit être clairement plus foncé que le puits du contrôle négatif.

Lecture spectrophotométrique

	450 nm	450/620 nm
Contrôle négatif et échantillon négatif	OD ₄₅₀ < 0.150	OD _{450/620} < 0.090
Echantillon positif	OD ₄₅₀ ≥ 0.150	OD _{450/620} ≥ 0.090
Contrôle positif (après déduction de la valeur du contrôle négatif)	OD ₄₅₀ ≥ 0.050	

Les contrôles positifs et négatifs doivent être compris dans leurs marges respectives, sans cela l'analyse n'est pas valide. Un résultat positif indique la présence d'adhésine d'*E. histolytica* dans l'échantillon fécal. Un résultat positif indique l'absence d'adhésine d'*E. histolytica* dans l'échantillon fécal.

DECHETS

Jetez tout composant inutilisé dans la poubelle aux déchets biologiques. Consultez la fiche de sécurité du produit (notice MSDS) pour plus amples informations.

SENSIBILITE, SPECIFICITE ET AUTRES DONNEES DU TEST

Référez-vous au tableau récapitulatif en fin de notice. Toutes les données sur le test Entamoeba CELISA Path sont sur la fiche technique du produit. Contactez Cellabs ou votre distributeur pour l'obtenir.

NOTICE D'INDEMNITE

Toute modification ou variation du protocole d'emploi recommandé peut affecter les performances annoncées du produit. Un résultat positif ou négatif n'exclue pas la présence d'autres agents causatifs sous-jacents. Cellabs et ses agents et distributeurs ne sont légalement responsables d'aucun dommage dans de telles circonstances.



ENTAMOEBA CELISA PATH

Italiano

FINALITA' D'USO E PRINCIPIO DEL TEST

Entamoeba CELISA Path kit è un saggio immunoenzimatico *in vitro* per la rilevazione dell'adesina di *E. histolytica* nel campione fecale. Entamoeba CELISA Path usa anticorpi verso l'adesina del microrganismo. I pozzetti della piastra per microdiluzioni, compresa nel kit, contengono anticorpi policlonali immobilizzati che legano l'adesina. Il coniugato è un anticorpo monoclonale specifico per l'adesina di *E. histolytica*. Durante il saggio un'aliquota del campione fecale è emulsionata in un diluente, il campione così diluito è trasferito nel pozzetto della piastra. Se nel campione è presente l'adesina, questa si lega al coniugato ed immobilizza l'anticorpo policlonale durante la fase di incubazione. Tutto il materiale non legato viene rimosso durante i lavaggi. Dopo l'aggiunta del substrato, si rileva la formazione di una colorazione grazie a complessi enzima-antigene-anticorpo che si formano in presenza dell'adesina. black

CONTENUTO DEL KIT

[EPMW]	Celisa Plate – 1x96 pozzetti - (solo ad uso singolo)		1 piastra
[EPPC]	Controllo positivo	(Tappo nero)	3.5mL
[EPDL]	Diluente	(Tappo bianco)	40mL
[EPPQ]	Enzima coniugato	(Tappo rosso)	7.0mL
[EPWB]	Tampone di lavaggio concentrato (20x)	(Tappo bianco)	50mL
[EPSA]	Substrato	(Tappo blu)	14.0mL
[EPSS]	Soluzione bloccante	(Tappo giallo)	7.0mL
	Fogli di plastica adesivi		1
	Busta richiudibile		1

Conservare tutti i componenti a 2-8 °C. Le date di scadenza sono chiaramente marcate su ogni componente del kit e sulla confezione. Le date di scadenza non cambiano una volta aperte le confezioni.

MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

Acqua distillata per diluire il reagente di lavaggio; bottiglia da 1L per diluizione del reagente di lavaggio; bottiglia con spruzzatore per il reagente di lavaggio; provette; bastoncini applicatori; micropipette con puntali usa e getta; miscelatore tipo Vortex; timer; contenitore per rifiuti e carta assorbente, spettrofotometro in grado di leggere l'assorbanza a 450nm o a 450/620nm in piastre EIA.

PRECAUZIONI

Solo per uso diagnostico *in vitro*. Non usare dopo la data di scadenza mostrata sull'etichetta. Se l'imballo protettivo è danneggiato, contattare il distributore di zona e chiedere una sostituzione. Non mischiare i componenti provenienti da kit diversi. I tappi e la punta hanno un codice colore, non mischiarli. Quando si maneggiano i pozzetti di reazione, evitare di graffiarne il fondo perché ciò può innalzare la lettura dell'assorbanza. Il Thimerosal aggiunto come conservante ad alcuni componenti è velenoso. Prestare attenzione quando si maneggiano questi componenti. La soluzione bloccante è corrosiva. Evitare il contatto con la pelle, gli occhi e le membrane mucose. Distribuire tutti i reagenti con attenzione per evitare contaminazioni crociate dei pozzetti. Evitare di esporre il substrato alla luce. È stato dimostrato che i controlli positivi non sono infettivi in coltura cellulare; tuttavia si raccomanda di maneggiarli come potenzialmente infettivi e di eliminarli in accordo alla regolamentazione locale. Per maggiori informazioni consultare la scheda di sicurezza del prodotto (MSDS).

ISTRUZIONI PER L'USO**Preparazione del tampone di lavaggio**

Se sono presenti cristalli nel concentrato, scaldare per discioglierli. Preparare la soluzione di lavoro di **WASH BUFFER** aggiungendo 50mL di **EPWB** a 950mL di acqua distillata. Etichettare la bottiglia e conservare a 2-8°C.

Prelievo e preparazione del campione

Sono appropriate le procedure standard per il prelievo e la manipolazione del campione di feci usate per la coltura. Non utilizzare campioni che sono stati prelevati o conservati in formalina al 10% ed in fissanti come il SAF o il PVA. Possono essere utilizzati i campioni fecali trasportati in terreni di trasporto come il Cary Blair o il C&S; tuttavia questi campioni arrivano già diluiti 1:5 e quindi devono essere esaminati direttamente dal contenitore e non devono essere diluiti in **EPDL**. I campioni devono essere trasportati appena possibile e conservati a 2-8°C. Se possibile eseguire il test su campioni fecali con meno di 24 ore. Se non è possibile eseguire il test entro le 48 ore conservare a -20°C o a temperature inferiori. Congelare e scongelare il campione, soprattutto se ripetutamente, può causare una perdita di attività, dovuta alla degradazione dell'adesina.

Assicurarsi che i campioni siano miscelati con attenzione prima di eseguire il test. Queste operazioni includono la completa miscelazione del campione prima del trasferimento nel diluente, e prima del trasferimento nel micropozzetto. Il diluente è stato formulato per stabilizzare l'adesina nei campioni fecali e minimizzarne la degradazione. Quando il test è pronto, diluire i campioni come segue:

1. Preparare un flacone per ciascun campione da esaminare. Aggiungere 0,4mL di **EPDL** in ciascun flacone. Marcare direttamente il flacone sul lato.
2. Miscelare con cura (vortex) il campione fecale per assicurare un campionamento adeguato.
3. **Feci formate:** usare un tampone per trasferire il campione fecale nel flacone. Coprire completamente il tampone, prima di trasferire il campione. Mescolare il tampone nel **EPDL** per rimuovere quanto più campione è possibile e strizzare il tampone contro la parete del flacone, per eliminare ogni residuo liquido. La procedura consente di trasferire approssimativamente da 0,15 a 0,20g di campione. Se non si usa il tampone per le feci formate, trasferire circa 0,15- 0,20 g di campione nel **EPDL**.
- Feci liquide:** usare pipette di plastica per trasferire 0,4mL di campione nel falcone. Assicurarsi che i campioni liquidi siano sospesi in modo omogeneo prima del trasferimento.
4. Agitare i flaconi con il Vortex per 10 secondi e conservare a 2 - 8°C finché si esegue il test ELISA. I campioni diluiti (**SAMPLE**) devono essere esaminati entro 5 ore dalla preparazione. Agitare di nuovo con il Vortex prima di trasferire il **SAMPLE** nel pozzetto della micropiastre. Questo garantisce l'accurata miscelazione del campione.

Procedura del saggio

1. Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (18-25°C) prima dell'uso.
2. Preparare la **WASH BUFFER** (vedere Preparazione del tampone di lavaggio)
3. Rimuovere il numero richiesto di strisce di **EPMW**. Immediatamente, risigillare la confezione, contenente le strisce di micropozzetti non utilizzati, con nastro adesivo.
4. Aggiungere 1 goccia di **EPPQ** (tappo rosso) al pozzetto di controllo positivo, al pozzetto di controllo negativo e al pozzetto del campione. Tenere in posizione verticale il flacone del coniugato quando si aggiungono le gocce. Scrivere l'identificazione del campione direttamente a margine del pozzetto.
5. Devono essere usati due (2) pozzetti di controllo ogni volta che si esegue il test. Aggiungere una (1) goccia di controllo positivo **EPPC** al pozzetto di controllo positivo e 0,1mL di diluente **EPDL** al pozzetto di controllo negativo. Aggiungere 0,2mL di **SAMPLE** nel pozzetto(i) per il test. Cambiare i puntali della pipetta tra tutti i campioni ed i controlli. Coprire i pozzetti ed incubare a temperatura ambiente per due (2) ore.
6. Svotare i pozzetti. Lavare i pozzetti usando il **WASH BUFFER** in una bottiglia con spruzzatore a beccuccio fine, indirizzando, con forza il flusso, del tampone direttamente verso il fondo del pozzetto. Riempire i pozzetti e quindi decantare il tampone. Battere la piastra rovesciata su un tovagliolo di carta asciutto e ripetere il lavaggio altre tre (3) volte. Se è presente del materiale particolato all'interno del pozzetto, ripetere la procedura finché non sia rimosso.
7. Dopo il lavaggio, asciugare rapidamente (finché non fuoriesce più il liquido) ed eliminare i tovaglioli di carta ed il contenitore del campione.
8. Dispensare in ciascun pozzetto due (2) gocce di substrato **EPSA** (tappo blu). Picchiettare delicatamente i pozzetti per mescolare il substrato. Incubare per dieci (10) minuti a temperatura ambiente al buio. Picchiettare i pozzetti due (2) o tre (3) volte durante l'incubazione per mescolare il contenuto. Osservare la formazione della colorazione blu.
9. Dispensare in ciascun pozzetto una (1) goccia di soluzione bloccante **EPSS** (tappo giallo). L'aggiunta della soluzione bloccante cambia il colore dei pozzetti da blu a giallo.
10. Quantificare i risultati, misurando l'assorbanza con uno spettrofotometro a 450nm di lunghezza d'onda (riferimento a 620nm su lettore a doppia lunghezza d'onda) . Il lettore deve essere azzerato contro aria. Prima di eseguire la lettura, pulire la parte sottostante dei pozzetti. Leggere le piastre entro 10 minuti di reazione di arresto. Se non è disponibile uno spettrofotometro il test può essere letto visivamente con una buona illuminazione contro sfondo bianco (usando un foglio di carta).

LETTURA, INTERPRETAZIONE E DIAGNOSI**Visivamente**

Negativo: Campioni che non appaiono di giallo più intenso, rispetto al colore del pozzetto di controllo negativo.

Positivo: Campioni che sono evidentemente di giallo più intenso, rispetto al colore del pozzetto di controllo negativo.

Nota: Il controllo negativo, come i pozzetti test possono mostrare un colore giallo pallido. Un pozzetto del campione per essere definito positivo deve essere di giallo più intenso, rispetto al colore del pozzetto di controllo negativo.

Fotometricamente

	450nm	450/620nm
Campione Negativo & Controllo Negativo	OD ₄₅₀ < 0.150	OD _{450/620} < 0.090
Campione positivo	OD ₄₅₀ ≥ 0.150	OD _{450/620} ≥ 0.090
Controllo positivo (una volta che è stato sottratto il valore del controllo negativo)	OD ₄₅₀ ≥ 0.050	

I valori di controllo positivo e negativo devono risultare entro la gamma per essere validi.

Un risultato positivo del test indica che è presente l'adesina di *E.histolytica* nel campione fecale. Un risultato negativo indica che nel campione fecale non è presente l'adesina di *E.histolytica*.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Eliminare qualsiasi componente non utilizzato come rifiuto potenzialmente infettivo. Per maggiori informazioni consultare la scheda di sicurezza (MSDS).

SENSIBILITA', SPECIFICITA' ED ALTRI DATI SU ENTAMOEBIA CELISA PATH

Vedere la tabella riassuntiva alla fine del foglio di istruzioni. Tutti i dati sulla Entamoeba CELISA Path sono disponibili sul foglio di istruzioni che è possibile richiedere al distributore di zona o contattando Cellabs.

AVVERTENZE SULL'INDENNIZZO

Modifiche o cambiamenti apportati alla procedura raccomandata possono modificare lo stato o causare reclami. Un risultato positivo o negativo non preclude la presenza di altri importanti agenti eziologici. Cellabs ed i suoi distributori non sono legalmente responsabili dei danni nel caso di tali circostanze.



ENTAMOEBIA CELISA PATH

Español

APLICACIONES Y PRINCIPIO DEL TEST

El test Entamoeba CELISA Path es un ensayo inmunoenzimático para la detección rápida de la adhesina de *E. histolytica* en muestras fecales humanas. El test Entamoeba CELISA Path emplea anticuerpos frente a la adhesina de este organismo. Los pocillos de la microplaca del kit contienen un anticuerpo policlonal inmovilizado que une a la adhesina. El conjugado es un anticuerpo monoclonal específico frente a la adhesina de *E. histolytica*. En el ensayo se emulsiona una alícuota de la muestra fecal en el diluyente y esta muestra diluida se transfiere a un pocillo de la microplaca. Si la adhesina está presente en la muestra, se une al conjugado y al anticuerpo policlonal inmovilizado durante la fase de incubación. Toda materia no unida se elimina en los pasos de lavado. Tras añadir el sustrato, se detecta la reacción de color desarrollada por los complejos antígeno-anticuerpo-enzima que se forman como resultado de la presencia de adhesina.

CONTENIDO DEL KIT

EPMW	Placa Celisa –1 x 96 pocillos (un único uso)		1 placa
EPPC	Control Positivo	(Tapón negro)	3.5mL
EPDL	Diluyente	(Tapón blanco)	40mL
EPPQ	Conjugado de enzima	(Tapón rojo)	7.0mL
EPWB	Concentrado de solución de lavado (20x)	(Tapón blanco)	50mL
EPSA	Substrato	(Tapón azul)	14.0mL
EPSS	Solución de parada	(Tapón amarillo)	7.0mL
	Cubiertas adhesivas de plástico		1
	Bolsa con autocierre		1

Almacenar todos los componentes a 2-8°C. Las fechas de caducidad están indicadas específicamente en cada uno de los componentes del kit y en el envase externo del mismo. Las fechas de caducidad no cambian tras la apertura de los viales.

MATERIALES REQUERIDOS QUE NO SE PROPORCIONAN

Agua destilada para la dilución del reactivo de lavado, botella de 1L para el reactivo de lavado diluido, frasco lavador para el reactivo de lavado, tubos de ensayo, varillas aplicadoras, micropipetas con puntas desechables, agitador vórtex, temporizador, contenedor para residuos y papel absorbente y Espectrofotómetro para leer absorbancias a 450nm o a 450/ 620nm.

PRECAUCIONES

Para utilización exclusiva en el diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Si se observase que el envase exterior está dañado, contactar con su distribuidor local y solicitar un kit nuevo. No mezclar componentes de diferentes kits. Los tapones y las puntas son de colores, no mezclar. Evitar arañar el fondo de los pocillos cuando se realice el ensayo, ya que esto podría implicar un incremento en las lecturas de las absorbancias. El conservante timerosal añadido a algunos componentes es un veneno. La manipulación de estos componentes debe realizarse con precaución. La solución de parada es corrosiva. Evitar el contacto con la piel, ojos y mucosas. Añadir todos los reactivos con cuidado para evitar la contaminación cruzada entre unos pocillos y otros. Evitar exponer el sustrato a la luz. Se ha comprobado que el porta control positivo no es infeccioso en cultivos de tejido. Sin embargo, debe manejarse como material potencialmente infeccioso. Tratar todas las muestras clínicas y los controles como material potencialmente infeccioso y eliminar de acuerdo con la normativa local. Para más información al respecto, consultar la ficha de seguridad (FDS).

INSTRUCCIONES DE USO

Preparación de la solución de lavado

Si se observa cristalización en el concentrado, calentar para disolver. Preparar la solución de lavado **WASH BUFFER** a la dilución de trabajo, añadiendo 50mL de **EPWB** a 950mL de agua destilada. Etiquetar el frasco y almacenar de 2 a 8°C.

Recogida y Preparación de las Muestras

Se consideran adecuados los procedimientos estándar de recogida y manipulación de muestras fecales para cultivo. **No utilizar muestras que hayan sido recogidas o almacenadas en formalina al 10%, SAF, o fijadores PVA.** Pueden emplearse muestras fecales transportadas en medios tales como Cary Blair o C&S, pero estas muestras vienen ya diluidas 1:5 y tienen que ensayarse tal como se reciben y no diluidas en **EPDL**. Las muestras deberían transportarse lo antes posible y almacenarse de 2 a 8°C. Si es posible, realizar el ensayo dentro de las siguientes 24 horas de la recepción de las muestras fecales. Si el ensayo no puede realizarse antes de 48 horas, almacenar las muestras a -20°C o temperatura inferior. La congelación y descongelación de muestras, sobre todo de forma repetida, puede tener como resultado la pérdida de actividad debido a la degradación de la adhesina.

Asegurarse de que las muestras están bien mezcladas antes de realizar el ensayo. Esto implica un mezclado completo de la muestra antes de pasarla al diluyente, así como un mezclado completo de la muestra diluida antes de pasarla al micropocillo. El diluyente está diseñado para estabilizar la adhesina de las muestras fecales y minimizar su degradación. Cuando el ensayo esté preparado para su realización, diluir las muestras como se indica a continuación:

1. Preparar un vial para cada una de las muestras a ensayar. Añadir 0.4mL de **EPDL** a cada vial. Rotular el vial directamente en un lado.
2. Mezclar bien (con vórtex) la muestra fecal para garantizar una toma de muestra adecuada.
3. **Muestras fecales sólidas:** Usar una torunda para trasladar la muestra fecal al vial. Impregnar la torunda por completo antes de trasladar la muestra. Mezclar la torunda en el **EPDL** para desprender lo más posible de la muestra y apretar la torunda contra un lado del vial para escurrir todo líquido residual. En este proceso deberían transportarse aproximadamente unos 0.15 a 0.20g de la muestra. Si no se usa la torunda para muestras fecales sólidas, trasladar aproximadamente de 0.15 a 0.20g de muestra al **EPDL**.

Muestras fecales líquidas: trasladar con una pipeta de plástico 0.4ml de muestra al vial. Asegurarse de que las muestras líquidas estén en suspensión uniforme antes de su traslado.

4. Mezclar con vórtex los viales durante 10 segundos y almacenar de 2 a 8°C hasta realizar el ELISA. Las muestras diluidas (**SAMPLE**) deberán utilizarse dentro de las 5 horas siguientes a su preparación. Mezclar con vórtex de nuevo antes de trasladar la **SAMPLE** al pocillo de la microplaca. Esto garantiza un buen mezclado de la muestra.

Procedimiento del ensayo

1. Permitir que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18-25 °C) antes de su uso.
2. Preparar la solución de lavado **WASH BUFFER** (ver preparación de solución de lavado)
3. Retirar el número necesario de tiras **EPMW**. Volver a sellar la bolsa de aluminio con las tiras de los micropocillos inmediatamente con su cierre.
4. Añadir 1 gota de **EPPQ** (tapón rojo) al pocillo del control positivo, al pocillo del control negativo y al pocillo de la muestra del paciente. Sostener el vial del conjugado en posición vertical al añadir las gotas. Rotular directamente sobre un lado del pocillo para su identificación.
5. Hay que usar dos (2) pocillos de control cada vez que se realice el ensayo. Añadir una (1) gota del control positivo **EPPC** al pocillo del control positivo y 0.1mL de diluyente **EPDL** al pocillo del control negativo. Añadir 0.2mL de **SAMPLE** al (los) pocillo(s). Cambiar las puntas de las pipetas entre todas las muestras y controles. Cubrir los pocillos e Incubar durante dos (2) horas a tª ambiente.
6. Vaciar el contenido de los pocillos por volcado de la placa. Lavarlos pocillos con solución de lavado **WASH BUFFER**, utilizando un frasco lavador de salida estrecha, dirigiendo la solución hacia el fondo del pocillo con presión. Llenar los pocillos, y luego vaciar la solución por volcado de la placa. Sacudir suavemente la placa invertida sobre papel secante y repetir el paso de lavado otras cuatro (4) veces. Mientras quede alguna partícula en los pocillos, seguir lavando hasta que desaparezca.
7. Tras el lavado, sacudir suavemente la placa (hasta que no salga líquido) y eliminar el papel secante y los recipientes de la muestra.

8. Adicionar dos (2) gotas de substrato **EPSA** (tapón azul) en cada pocillo. Golpear ligeramente los pocillos para mezclar el substrato. Incubar durante diez (10) minutos a t° ambiente en la oscuridad. Golpee ligeramente los pocillos dos (2) o tres (3) veces durante la incubación para mezclar el contenido. Observar el desarrollo del color azul.
9. Añadir una (1) gota de solución de parada **EPSS** (tapón amarillo) a cada pocillo. La adición de la solución de parada cambia el color de los pocillos del azul al amarillo.
10. Cuantificar los resultados midiendo la absorbancia con un espectrofotómetro a una longitud de onda de 450nm (referencia 620nm en lector de longitud de onda dual). El aparato debería calibrarse utilizando como blanco un pocillo vacío. Limpiar el fondo externo de cada pocillo antes de medir la densidad óptica. Las placas deben leerse dentro de los 10 minutos siguientes a la adición de la solución de parada.

Si no se dispone de un espectrofotómetro, se puede realizar una lectura visual del test, con buena luz y contra un fondo blanco (una hoja de papel, por ejemplo)

LECTURA E INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS Y DIAGNOSTICO

Visualmente

Negativo: Toda muestra que no sea de forma evidente más amarilla que el pocillo del control negativo.

Positivo: Toda muestra que sea de forma evidente más amarilla que el pocillo del control negativo.

Nota: El control negativo, así como algunos pocillos de ensayo, pueden mostrar una ligera coloración amarilla. Un pocillo de muestra tiene que ser claramente más oscuro que el pocillo del control negativo para considerarse como un resultado positivo.

Por fotometría

	450nm	450/620nm
Muestra Negativa y Control Negativo	$OD_{450} < 0.150$	$OD_{450/620} < 0.090$
Muestra Positiva	$OD_{450} \geq 0.150$	$OD_{450/620} \geq 0.090$
Control Positivo (una vez restado el valor del control negativo)	$OD_{450} \geq 0.050$	

Los valores de control positivo y negativo deben estar comprendidos entre estos márgenes para que el test sea válido.

Un resultado positivo indica que la adhesina de *E.histolytica* está presente en la muestra fecal. Un resultado negativo indica que la adhesina de *E.histolytica* no está presente en la muestra fecal.

ELIMINACION DE LOS RESIDUOS

Los componentes sin usar deben eliminarse como material de riesgo biológico. Para más información, consultar la ficha de datos de seguridad FDS.

SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, Y OTROS DATOS DEL ENTAMOEBA CELISA PATH

Consultar la tabla resumen al final de este manual de instrucciones. Todos los datos del Entamoeba CELISA Path pueden obtenerse en la ficha técnica del producto. Para más información, consultar con su distribuidor local o contactar con Cellabs.

DE POSIBLES INDEMNIZACIONES

Las modificaciones o cambios realizados sobre el procedimiento recomendado pueden afectar a las posibles reclamaciones tanto directa como indirectamente. Un resultado positivo o negativo no excluye la presencia de otros agentes etiológicos subyacentes. Ni Cellabs ni sus agentes o distribuidores serán legalmente responsables por daños producidos bajo estas circunstancias.



ENTAMOEBA CELISA PATH

Português

UTILIZAÇÃO E PRINCIPIO DO TESTE

O Entamoeba CELISA Path é um imunoenensaio enzimático para a detecção rápida da adesina dos organismos *E.histolytica* em amostras fecais humanas. Este teste utiliza anticorpos anti-adesina desse organismo. Os poços da microplaca, incluídos no kit, contêm anticorpos policlonais imobilizados anti-adesina. O conjugado é um anticorpo monoclonal específico para a adesina de *E.histolytica*. No teste, é emulsionada, em diluente, uma alíquota de uma amostra fecal e a amostra diluída é então transferida para um poço da microplaca. Se a adesina estiver presente na amostra, irá ligar-se ao conjugado e ao anticorpo policlonal imobilizado durante a fase de incubação. Todo o material não ligado é removido durante a etapa de lavagem. Após a adição do substrato, é detectada uma cor azul devido aos complexos enzimáticos anticorpo-antígeno que se formam na presença de adesina.

CONTEUDOS DO KIT

EPMW	Placa Celisa - 1x96 poços - (para uma utilização)	1 placa
EPPC	Controlo Positivo (Tampa preta)	3.5mL
EPDL	Diluente (Tampa branca)	40mL
EPPO	Conjugado Enzimático (Tampa vermelha)	7.0mL
EPWB	Tampão de Lavagem Concentrado (20x) (Tampa branca)	50mL
EPSA	Substrato (Tampa azul)	14.0mL
EPSS	Solução de Paragem (Tampa amarela)	7.0mL
	Folhas adesivas de plástico	1
	Invólucro re selável	1

Os materiais fornecidos estão prontos a usar. Conservar a 2-8 $^{\circ}$ C. As datas de validade estão referidas em cada componente do kit e na caixa do mesmo. As datas de validade não se alteram com a abertura dos componentes.

MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO É FORNECIDO

Água destilada; garrafa de 1L para o reagente de lavagem diluído; esguicho para reagente de lavagem; tubos de ensaio; bastões aplicadores/zaragatoas; micropipetas com pontas descartáveis; agitador Vortex; temporizador; recipiente para resíduos e papel absorvente; Espectro fotómetro capaz de ler absorvências, a 450 nm ou 450/620 nm, em placas EIA.

PRECAUÇÕES

Apenas para diagnóstico *in vitro*. Não utilizar após ter passado a data de validade. Se a embalagem protectora for danificada, contactar o representante local e pedir a substituição por uma nova. Não misturar componentes de kits diferentes. As tampas e as pontas das pipetas utilizam um código de cores: não misturar. Evitar raspar o fundo dos poços, isto pode causar absorvências elevadas. O conservante de Timerosal, adicionado a determinados componentes, constitui um veneno. Cuidado ao manusear estes componentes. A solução de paragem é corrosiva. Evitar o contacto com a pele, olhos e membranas mucosas. Dispensar os reagentes com cuidado para evitar contaminação dos poços. Evitar exposição à luz do substrato. O controlo positivo mostrou-se não-infeccioso em cultura de tecido, contudo deve sempre ser manuseada como sendo potencialmente infeccioso. Todo o material clínico e de controlo deve ser tratado como potencialmente infeccioso e deverá ser descartado segundo as normas em vigor. Consultar a ficha de segurança do produto (MSDS) para mais informações.

INSTRUÇÕES DE USO

Preparação do Tampão de Lavagem

Se surgirem cristais no concentrado, aquecer para dissolvê-los. Preparar a solução de trabalho do **WASH BUFFER** adicionando 50mL de **EPWB** a 950mL de água destilada. Colocar rotulo a identificar a garrafa e conservar a 2-8 $^{\circ}$ C.

COLHEITA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os procedimentos padrão para a colheita e manuseamento de amostras fecais são apropriados. **Não utilizar amostras que tenham sido colhidas ou conservadas em 10% de fixadores PVA, SAF, ou formalina.** As amostras fecais que estiverem em meio de montagem tais como Cary Blair ou C&S podem ser utilizadas. Contudo, estas amostras chegam a uma diluição de 1:5 e devem ser testadas directamente do recipiente contentor e não diluídas em **EPDL**. As amostras devem ser transportadas assim

que for possível e conservar a 2-8 °C. Se possível, testar primeiro as amostras que forem inferiores a 24 horas. Se a dosagem não poder ser feita em 48 horas, conservar as amostras a -20 °C. Congelar e descongelar a amostra, em especialmente se for com frequência, podem causar a perda da actividade devido à degradação da adesina.

Verificar se as amostras estão bem homogeneizadas antes da execução do teste. Isto inclui verificar se mistura da amostra está completa antes da transferência para o diluente, e também como homogeneizar a amostra diluída antes da sua colocação no poço da microplaca. O diluente foi formulado para estabilizar a adesina em amostras fecais e para minimizar a sua degradação. Depois de executar estes procedimentos, diluir as amostras da seguinte forma:

1. Preparar um tubo de ensaio para cada amostra a ser testada. Adicionar 0.4mL de **[EPDL]** a cada frasco. Colocar rótulo no tubo de ensaio.
2. Agitar bem (vortex) as amostras fecais.
3. **Amostras sólidas:** utilizar uma zaragatoa para transferir a amostra fecal para dentro do tubo de ensaio. Impregnar bem a zaragatoa antes de transferir a amostra. Misturar a amostra em **[EPDL]** para retirar o mais possível de amostra; pressionar a extremidade da zaragatoa contra o tubo de ensaio para extrair todo o líquido residual. Este procedimento resulta na transferência de aproximadamente 0.15 a 0.20g de amostra. Se a zaragatoa não for utilizada para amostras sólidas, transferir aproximadamente 0.15 a 0.20g de amostra para o **[EPDL]**.
Amostras líquidas: utilizar uma pipeta plástica para transferir 0.4 ml da amostra para o tubo de ensaio. Certificar-se de que as amostras são suspensas de forma homogénea antes de transferir.
4. Agitar os tubos (vortex) durante 10 segundos e conservar a 2-8 °C até a execução do ELISA. As amostras diluídas (**[SAMPLE]**) devem ser utilizadas até 5 horas após a sua preparação. Agitar novamente antes de transferir a **[SAMPLE]** para o poço da microplaca.

Execução do Teste

1. Colocar o reagente à temperatura ambiente (18-25 °C) antes de usar.
2. Preparar **[WASH BUFFER]** (ver em 'Preparação do Tampão de Lavagem')
3. Retirar o número necessário de tiras - microplaca **[EPMW]**. Voltar a selar o invólucro de alumínio donde estas foram retiradas.
4. Adicionar uma gota de **[EPPQ]** (tampa vermelha) a um poço de controlo positivo e negativo e no poço da amostra do doente. Segurar na vertical o conta-gotas com o conjugado quando estiver a adicionar as gotas. As marcas de identificação podem ser escritas directamente na parte lateral do poço.
5. Têm de ser utilizados dois (2) poços de controlo cada vez que o teste for executado. Adicionar uma (1) gota do controlo positivo **[EPPC]** ao poço de controlo positivo e 0.1 mL do diluente **[EPDL]** ao poço de controlo negativo. Adicionar 0.2mL da **[SAMPLE]** nos poços para o teste. Trocar as pontas das pipetas entre cada amostra e controlo. Tapar os poços e incubar à temperatura ambiente durante duas horas.
6. Remover os conteúdos dos poços testados. Lavar os poços com o **[WASH BUFFER]** dentro de um esguicho com uma extremidade de ponta fina, direccionando o tampão de lavagem para o fundo do poço com vigor. Encher os poços, e despejar o tampão de lavagem. Inverter a placa e bater contra um papel absorvente e repetir a etapa de lavagem mais três (3) vezes. Caso permaneçam partículas dentro dos poços, continuar a lavagem até estas terem desaparecido.
7. Após lavagem, bater a placa contra papel absorvente (até ficar seca) deitar fora o papel absorvente e os recipientes das amostras.
8. Dispensar duas (2) gotas de substrato **[EPSA]** (tampa azul) a cada poço. Bater de leve nos poços para misturar o substrato. Incubar por dez (10) minutos a temperatura ambiente, no escuro. Bater de leve nos poços, duas ou três vezes, durante a incubação para misturar os conteúdos. Observar a formação de uma cor azul.
9. Dispensar uma (1) gota de solução de paragem **[EPSS]** (tampa amarela) a cada poço. A adição da solução de paragem altera a cor dos poços de azul para amarelo.
10. Quantificar os resultados pela medição da absorvência num espectrofotómetro a 450nm (referencia 620nm num leitor de onda dupla). Deverá ser feito o "zero" do aparelho ao ar. Limpar a parte de baixo de cada poço antes de medir a densidade óptica. As placas devem ser lidas nos dez minutos decorrentes após a adição da solução de paragem. O teste pode ser sem ajuda visual (aparelhos), à luz e em fundo branco. (ex. Uma folha de papel)

LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS E DO DIAGNÓSTICO

Leitura sem ajuda visual (aparelhos)

Negativo: Qualquer amostra que não é, de forma óbvia, mais amarela do que o controlo negativo.

Positivo: Qualquer amostra que é, de forma óbvia, mais amarela do que o controlo negativo.

Nota: O controlo negativo, bem como alguns poços do teste, pode apresentar uma ligeira coloração amarela. Para se classificar um resultado como positivo, a amostra tem de ser, obviamente, mais escura do que o controlo negativo.

Leitura Fotométrica

	450nm	450/620nm
Amostra Negativa & Controlo Negativo	OD ₄₅₀ < 0.150	OD _{450/620} < 0.090
Amostra Positiva	DO ₄₅₀ ≥ 0.150	DO _{450/620} ≥ 0.090
Controlo Positivo (após dedução do valor de controlo negativo)	DO ₄₅₀ ≥ 0.050	

Valores para controlo positivo e negativo devem ser dentro do limite para o teste ser considerado válido.

Um resultado positivo indica a presença de *E. histolytica* na amostra fecal. Um resultado negativo indica que a adesina da *E. histolytica* não se encontra presente na amostra fecal.

ELIMINAÇÃO DOS RESÍDUOS

Deitar fora qualquer componente que tenha sido utilizado como material de risco biológico. Para mais informações consulte a MSDS

SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, & OUTROS DADOS DO ENTAMOEBIA CELISA PATH

Consultar sumário no final do folheto de instruções. Todos os dados sobre o Entamoeba CELISA Path podem ser consultados na folha de informação do produto. Contacte o distribuidor ou contacte a Cellabs.

NOTA SOBRE POSSÍVEIS INDEMINIZAÇÕES

As modificações realizadas aparte do protocolo recomendado podem afectar os resultados. Um resultado positivo ou negativo não exclui a presença de outros agentes causadores subjacentes. A Cellabs e os seus distribuidores não serão legalmente responsáveis por qualquer dano nestas circunstâncias.

FIGURE 1 ENTAMOEBA CELISA PATH DIAGRAM FOR USE

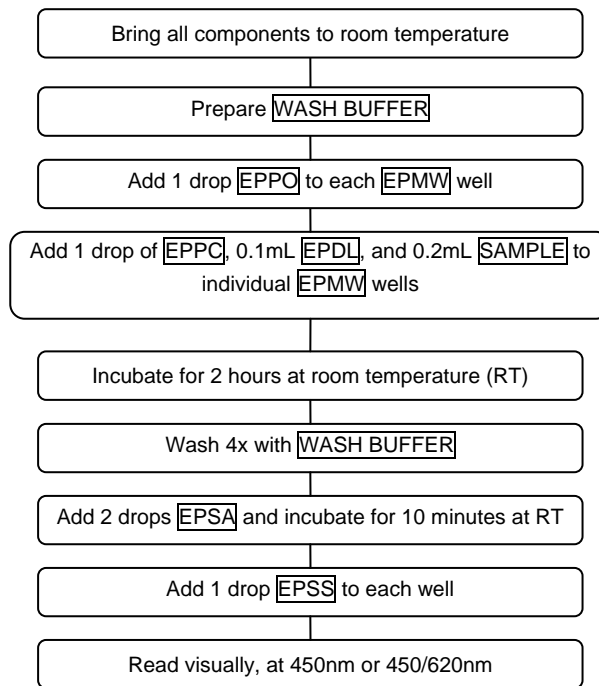


TABLE 1: SENSITIVITY, SPECIFICITY, & OTHER DATA ON THE ENTAMOEBA CELISA PATH
 TABLEAU 1: SENSIBILITÉ, SPÉCIFICITÉ ET AUTRES DONNÉES DU TEST ENTAMOEBA CELISA
 TABELLA 1: SENSIBILITA', SPECIFICITA' ED ALTRI DATI SULLA ENTAMOEBA CELISA PATH
 TABLA 1: SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y OTROS DATOS DEL ENTAMOEBA CELISA PATH
 TABELA 1: SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE E OUTROS DADOS DO ENTAMOEBA CELISA PATH

Trial Essai Prova Prueba Teste	Sensitivity Sensibilité Sensibilita' Sensibilidad Sensibilidade	Specificity Spécificité Specificita' Especificidad Especificidade	Repeatability Répétabilité Ripetibilita Repetibilidad Repetição	Reproducibility Reproductibilité Riproducibilita Reproducibilidad Reproduçibilidade
A	96.9%	100%	-	-
B	100%	94.7%	-	-
C	93%	97%	-	-
D	95%	93%	-	-
E	The Entamoeba CELISA Path detects approximately 0.2 to 0.4ng of adhesion per well			
F	-	-	Positive CV = 4.728%	Positive CV = 13.811%
Not cross reactive with / Pas de Réaction Croisée avec / Non mostra reazione crociata con / No muestra reacción cruzada con / não apresenta reação cruzada com: <i>Ascaris lumbricoides, Blastocystis hominis, Clostridium difficile, Cryptosporidium sp., Endolimax sp., Entamoeba coli, Escherichia coli, Giardia lamblia, Rotavirus, Salmonella typhimurium, Shigella sonnei, Trichuris trichura</i>				

EXPLANATION OF SYMBOLS



Consult Instructions for Use
 Consulter le Mode d'Emploi
 Consultare le istruzioni per l'uso
 Consultar el manual de instrucciones
 Consultar o Folheto de Instruções



In Vitro Diagnostic Medical Device
 Produit Diagnostic Médical In Vitro
 Diagnostico in vitro Dispositivo medico
 Producto Sanitario para Diagnóstico In Vitro
 Produto de Diagnóstico Médico In vitro



Temperature Limitation
 Températures Limites
 Temperatura limite
 Límite de temperatura
 Temperatura Limitada



Biological Risks
 Risques Biologiques
 Rischi biologici
 Riesgo biológico
 Risco Biológico



Authorised Representative in the EC
 Représentant Autorisé dans la EC
 Rappresentante Autorizzato nella EC
 Representante autorizado en la EC
 Representante Autorizado na CE

MDCI Ltd
 Arundel House, 1 Liverpool Gardens
 Worthing, West Sussex BN11 1SL
 United Kingdom



Manufacturer
 Fabricant
 Fabricante
 Fabricante

Cellabs Pty Ltd
 Unit 7, 27 Dale Street (PO Box 421)
 Brookvale, NSW 2100 Australia
 Tel: +61 2 9905 0133 Fax: +61 2 9905 6426
 Web: http://www.cellabs.com.au
 Email: sales@cellabs.com.au

Insert Version
 Manuel Version
 Versione Inserto
 Versión del manual de instrucciones
 Versão do folheto de Instruções

en fr it es pt
 LE1.11 - PDF
 10th November 2004