

# VITASSAY

## Entamoeba

Test rápido de detección cualitativa de Entamoeba histolytica y Entamoeba dispar en muestras de heces humanas.

IU-7355036 Ed01 Octubre 2017



Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.

### USO PREVISTO

**Vitassay Entamoeba** es un ensayo rápido, inmunocromatográfico y en un solo paso para la detección cualitativa de *Entamoeba histolytica* y *Entamoeba dispar* en muestras de heces humanas.

Ensayo sencillo, no invasivo y de alta sensibilidad que sirve de ayuda en el diagnóstico de una posible infección por *Entamoeba* (amebiasis).

### INTRODUCCIÓN

*Entamoeba histolytica* es un parásito protozoario que invade el epitelio intestinal mediante un único proceso biológico celular llamado trogocitosis, dando lugar a diarrea, disentería y enfermedad extra intestinal.

El género *Entamoeba* contiene algunas especies, seis de las cuales se encuentran en el tracto intestinal humano: *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmanni*, y *Entamoeba polecki*. De estas especies, sólo *E. histolytica* está asociada con daños patológicos; las otras están consideradas como especies no patógenas.

Los alimentos y bebida contaminados con heces que contienen quistes son la fuente más común de infección. La mayoría de los casos aparece desde los humanos portadores o transmisores de quistes, los cuales pasan los mismos en heces sólidas o semi sólidas.

Ya que la transmisión está frecuentemente asociada con agua y comida contaminada, los niños pequeños no suelen desarrollar amebiasis muy frecuentemente. La enfermedad más severa está asociada con la temprana edad, con la malnutrición e inmunosupresión.

La forma móvil (trophozoite) de *E. histolytica* se encuentra en el colon humano donde se multiplica y diferencia en quistes que se desprenden en el medio. Estos quistes son los responsables de transmitir la infección a otro hospedador vía feco-oral. El parásito invade la mucosa intestinal y causa algunas formas de enfermedad invasiva, incluyendo disentería. El parásito también se dispersa vía sanguínea causando lesiones extra intestinales, principalmente abscesos en el hígado. La última forma ocurre raramente. La enfermedad invasiva sucede cuando los trophozoitos virulentos traspasan la barrera mucoepitelial, cruzando la capa mucosa, dañando las células intestinales. Este daño se procesa con inflamación y posteriormente con disentería. Aunque la mayoría de las infecciones suelen ser asintomáticas.

### PRINCIPIO

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

En la zona de la línea de test de la membrana de nitrocelulosa se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a Entamoeba.

Durante el proceso, la muestra reacciona con anticuerpos anti-Entamoeba, formando conjugados. La mezcla se mueve hacia la parte de arriba de la membrana por acción capilar. Si la muestra es positiva, los anticuerpos presentes en la membrana (línea de test) capturan el complejo conjugado formado y aparecerá una línea **roja**. Aunque la muestra sea positiva o negativa, la mezcla continua moviéndose a través de la membrana y la línea de control **verde** siempre aparecerá.

La presencia de una línea **verde** (en la zona de control (C)) indica que el volumen añadido es suficiente, que el flujo ha sido el adecuado y también sirve como control interno de los reactivos.

### PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No utilizar el test si el envase primario se encuentra dañado.
- Las muestras deben considerarse potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Para evitar errores de contaminación, un nuevo test deberá utilizarse para la evaluación de cada muestra. Dispositivos de un solo uso.
- Los tests tras su utilización 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 **Vitassay Entamoeba**. 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.

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El producto debe ser almacenado en el rango de temperatura comprendido entre 2 y 30°C (35.6 y 86°F) en su envase original sellado.

Así se garantiza el óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase.

No debe abrirse hasta el momento de su uso.

No congelar.

## MATERIALES

MATERIAL SUMINISTRADO	MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO
<ul style="list-style-type: none"> <li>25 tests/kit <b>Vitassay Entamoeba</b></li> <li>Instrucciones de uso.</li> <li>25 viales con diluyente para dilución de muestra.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Recipiente para recogida de muestras.</li> <li>Guantes desechables.</li> <li>Cronómetro.</li> </ul>

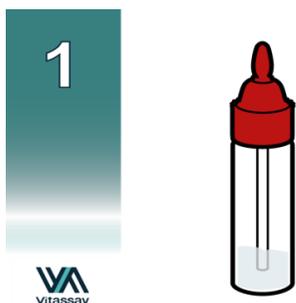
## RECOGIDA DE MUESTRAS

La cantidad de heces tomada debe ser suficiente: 1-2g o mL si la muestra es líquida. Las muestras deben ser almacenadas en un envase limpio y seco.

Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-8°C/35.6-46.4°F) durante 1-2 días antes de su uso. Si queremos conservar la muestra por un periodo prolongado, máximo 1 año, debe congelarse a -20°C (-4°F). La muestra debe ser totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente antes de usarse.

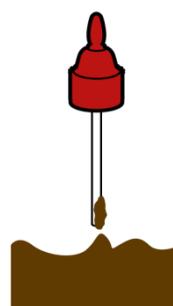
## PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Abrir el vial con diluyente para dilución de muestra (figura 1).
2. Usar el palo de muestra para coger suficiente cantidad de muestra. Para muestras sólidas, introducir el palo de toma de muestra una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra, tomando aprox. 125mg, (figura 2), el palo con la muestra tomada se introduce en el vial para dilución de muestra. Si la muestra es líquida, añadir aprox. 125µL de muestra en el vial para dilución de muestra utilizando una micropipeta.
3. Cerrar el vial con la muestra y el diluyente. Agitar vigorosamente para facilitar la dispersión de la muestra (figura 3).



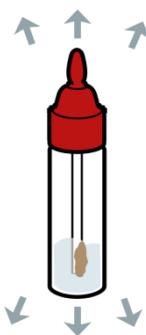
Vial de dilución de muestra.

2



Toma de muestras en 4 zonas distintas.

3



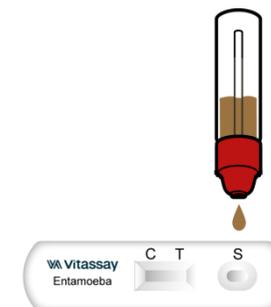
Poner la muestra dentro del vial, cerrar el tapón y agitar.

4



Cortar la punta del tapón.

5



Dispensar 4 gotas en la ventana circular, marcada con la letra S.

## PROCEDIMIENTO

Antes de realizar la prueba, los test, muestras de heces, controles y diluyente deben alcanzar temperatura ambiente (15-30°C / 59-86°F). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.

1. Agitar el vial con la muestra para asegurar una buena dilución de la muestra.
2. Sacar **Vitassay Entamoeba** de su envase antes de utilizarlo.
3. Tomar el vial con diluyente para dilución de muestra, cortar la punta del tapón (figura 4) y dispensar 4 gotas en la ventana de muestra, indicada con la letra S (figura 5).
4. Leer el resultado a los **10 minutos**. No leer resultados transcurridos más de 10 minutos.

Si no se observa el avance de la cromatografía debido a la presencia de partículas sólidas, se debe agitar con el palito la muestra en la ventana. Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

	NEGATIVO	No existe presencia de <i>Entamoeba histolytica</i> o <i>Entamoeba dispar</i> en la muestra. No hay infección por <i>Entamoeba histolytica</i> o <i>Entamoeba dispar</i> .
	Una sola línea verde en la zona de control (C).	
	POSITIVO	Existe presencia de <i>Entamoeba histolytica</i> o <i>Entamoeba dispar</i> . Infección por <i>Entamoeba histolytica</i> o <i>Entamoeba dispar</i> .
	Además de la línea verde (línea de control C), aparece una línea roja, (línea de test T).	
Cualquier otro resultado		Resultado inválido, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test. <b>Nota:</b> procedimiento inadecuado, deterioro de reactivos, o volumen insuficiente de muestra podrían ser la causa del resultado inválido. Si los síntomas o situación continúan, dejar de utilizar el kit y contactar con su distribuidor.

**Observaciones:** La intensidad de la línea de color rojo en la zona de línea de test (T) variará dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra.

#### CONTROL DE CALIDAD

Existe un control interno del procedimiento incluido en **Vitassay Entamoeba**. La línea verde que aparece como control interno del proceso (C), comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

#### LIMITACIONES

- No debe utilizarse **Vitassay Entamoeba** una vez abierto y transcurridas 2 horas.
- Utilizar únicamente muestras frescas o muestras frescas congeladas sin conservantes ni fijadores.
- Un exceso de muestra puede dar resultados erróneos (aparición de líneas de color pardo). Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- La intensidad de la línea del test puede variar dependiendo de la concentración de antígenos.
- 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 de heces humanas. Se debe tomar la muestra de heces dentro de la primera semana de aparición de los síntomas.
- No ha sido determinado el uso del test en muestras diferentes a las humanas.
- La calidad de **Vitassay Entamoeba** depende de la calidad de la muestra, por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras.
- Los resultados positivos determinan la presencia de Entamoeba histolytica y/o dispar en muestras de heces. Un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas de laboratorio (métodos bioquímicos o por microscopía) para determinar los resultados. 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, la determinación de Entamoeba histolytica y/o Entamoeba dispar se debería realizar con otra técnica (por ejemplo microscopía).

#### VALORES ESPERADOS

La infección por *Entamoeba histolytica* es la tercera gran enfermedad parasitaria responsable de muerte en el mundo, después de la malaria y la schistosomiasis. Afecta aproximadamente a 180 millones de personas, de las cuales de 40000 a 110000 mueren cada año. Las infecciones por Entamoeba histolytica están extendidas por el mundo, más comúnmente en los trópicos y subtropicales.

La gente particularmente expuesta a este parásito son personas que viven y viajan a las zonas tropicales y subtropicales (Asia, África, India, Indonesia, México, South America, South Africa). Las zonas con estas condiciones climáticas son óptimas para los quistes protozoarios, pudiendo sobrevivir en el medio externo durante días. Este hecho contribuye al incremento del número de infecciones por entamoeba histolytica en zonas tropicales.

*E. histolytica* se diferencia entre países, condiciones socioeconómicas y sanitarias, y poblaciones. Es altamente endémica en comunidades pobres y socio-económicamente desfavorecidas en los trópicos y subtropicales. El ambiente, la situación socio-económica, las condiciones demográficas y la higiene relativa al comportamiento son conocidos por influenciar la transmisión y distribución de infecciones por parásitos intestinales.

#### CARACTERÍSTICAS DEL TEST

##### Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo una evaluación, con muestras de heces, utilizando **Vitassay Entamoeba** y estos resultados fueron confirmados con otros tests qPCR comercializado (VIASURE *Entamoeba histolytica* Real Time Detection Kit y VIASURE *Entamoeba dispar* Real Time Detection Kit, CerTest).

Los resultados se muestran a continuación:

Vitassay Entamoeba	VIASURE <i>Entamoeba histolytica</i> Real Time Detection Kit		
	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	4	1
Negativo	1	107	108
Total	5	108	113

Vitassay Entamoeba vs VIASURE <i>Entamoeba histolytica</i> Real Time Detection Kit		
	Valor Medio E. histolytica	95% intervalo de confianza
Sensibilidad	80%	28.4-99.5%
Especificidad	99%	94.9-100%
VPP	80%	28.4-99.5%
VPN	97%	94.9-100%

Vitassay Crypto+Giardia +Entamoeba	VIASURE <i>Entamoeba dispar</i> Real Time Detection Kit		
	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	15	1
Negativo	6	107	113
Total	21	108	129

Vitassay Entamoeba vs VIASURE <i>Entamoeba dispar</i> Real Time Detection Kit		
	Valor Medio E. dispar	95% intervalo de confianza
Sensibilidad	71%	47.8-88.7%
Especificidad	99%	94.9-100%
VPP	94%	69.8-99.8%
VPN	95%	88.8-98.0%

Vitassay Crypto+Giardia +Entamoeba	VIASURE <i>Entamoeba histolytica</i> Real Time Detection Kit and VIASURE <i>Entamoeba dispar</i> Real Time Detection Kit		
	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	19	2
Negativo	7	214	221
Total	26	216	242

Vitassay Entamoeba vs VIASURE <i>Entamoeba histolytica</i> Real Time Detection Kit and VIASURE <i>Entamoeba dispar</i> Real Time Detection Kit		
	Valor Medio E. histolytica+ E. dispar	95% intervalo de confianza
Sensibilidad	73%	52.2-88.4%
Especificidad	99%	96.7-100%
VPP	90%	69.6-98.8%
VPN	97%	93.6-98.7%

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

### Reacciones cruzadas

No se detectaron reacciones cruzadas con los siguientes 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>	

### REFERENCIAS/BIBLIOGRAFÍA

1. HANS P. VERKERKE; BLAKE HANBURY; ABDULLAH SIDDIQUE; AMIDOU SAMIE; RASHIDUL HAQUE; JOEL HERBEIN; WILLIAM A. PETRI, JR. "Multisite Clinical Evaluation of a rapid test for Entamoeba histolytica in stool". Journal of Clinical Microbiology, February 2015, Vol. 53, Number 2, pp. 493-497.

2. THIAGO DOS SANTOS COMES; MARIANA COIMBRA GARCIA; FLAVIA DE SOUZA CUNHA; HELOISA WERNECK DE MACEDO; JOSÉ MAURO PERALTA; REGINA HELENA SARAMAGO PERALTA. "Differential diagnosis of Entamoeba spp. in clinical samples using SYBR Green real-time Polymerase Chain Reaction". Hindawi Publishing Corporation - The Scientific World Journal, vol 2014, article ID 645084, 8 pages.

3. LAU, Y.L.; JAMAIAH, I.; ROHELA, M.; FONG, M.Y.; SITI, C.O.S.; SITI, F.A. "Molecular detection of Entamoeba histolytica and Entamoeba dispar infection among wild rats in Kuala Lumpur, Malaysia. Tropical Biomedicine 31(4): 721-727 (2014).

4. MOUSTAFA ABDELAAL HEGAZI; TABAREK AHMED PATEL; BASEM SALAMA EL-DEEK. "Prevalence and characters of Entamoeba histolytica infection in Saudi infants and children admitted with diarrhea at 2 main hospitals at south Jeddah: a re-emerging serious infection with unusual presentation". The Brazilian Journal of Infectious Diseases, 2013; 17(1):32-40.

5. DEIVIANE APARECIDA CALEGAR; BEATRIZ CORONATO NUNES; KERLA JOELINE LIMA MONTEIRO; JESSICA PEREIRA DOS SANTOS; HELENA KEIKO TOMA; TAIS FERREIRA COMES; MARLI MARIA LIMA; MARCIO NEVES BOIA; FILIPE ANIBAL CARVALHO-COSTA. "Frequency and molecular characterization of Entamoeba histolytica, Entamoeba dispar, Entamoeba moshkovskii, and Entamoeba hartmanni in the context of water scarcity in northeastern Brazil". Mem Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 111(2): 114-119, February 2016.

6. PIOTR NOWAK; KATARZYNA MASTALSKA; JAKUB LOSTER. "Entamoeba Histolytica - Pathogenic Protozoan of the Large

Intestine in Humans". Journal of Clinical Microbiology and Biochemical Technology 1(1): 010-017.

### SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

 IVD	Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Almacenar en lugar seco
	Consultar las instrucciones de uso		Limitación de temperatura
	Fecha de caducidad		Fabricante
	Número de lote		Contiene <n> test
DIL	Diluyente de muestra		Número de referencia

