

## RIDA® QUICK Entamoeba

**REF** N1703



## 1. Zweckbestimmung

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDA<sup>®</sup>QUICK Entamoeba ist ein immunchromatografischer Schnelltest zum qualitativen Nachweis von *Entamoeba histolytica* (sensu lato) in Stuhlproben.

## 2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

***Entamoeba histolytica sensu lato*** infiziert jährlich bis zu 500 Millionen Menschen weltweit. Molekulargenetische Untersuchungen haben gezeigt, dass die mit herkömmlichen diagnostischen Methoden identifizierten Protozoen mit der Bezeichnung *Entamoeba histolytica* aus zwei, morphologisch nicht unterscheidbaren Spezies bestehen, der pathogenen Spezies *Entamoeba histolytica sensu stricto* und der nach heutigem Wissensstand apathogenen Spezies *Entamoeba dispar*. Schätzungsweise 90 % der Entamoeba-Infektionen sind durch *E. dispar* bedingt. Die jährlich etwa 40 - 50 Millionen Fälle von Amöben-Colitis oder Leberabszess mit 80.000 Todesfällen werden durch *E. histolytica* verursacht.

Der Lebenszyklus von Entamoeba ist relativ einfach. Die Infektion erfolgt über die orale Aufnahme von vierkernigen Zysten. Aus diesen entwickelt sich im Dünndarm die einkernige vegetative Form des Parasiten, der Trophozoit (Minuta-Form), der sich vorwiegend im Dickdarm vermehrt und differenziert. Vermutlich durch das Milieu im unteren Dickdarmbereich wird dieENZYSTIERUNG ausgelöst. Trophozoiten findet man neben den Zysten nur bei beschleunigter Darmpassage im Stuhl.

Die klinischen Symptome einer Amöbiasis werden durch die Invasion des Parasiten aus dem Darmlumen in die Schleimhaut des Kolons ausgelöst. Hierbei findet man häufig Trophozoiten mit phagozytierten Erythrozyten. Diese Trophozoiten werden wegen ihrer Größe als Magna- Form bezeichnet. Folgen der Invasion in die Darmmukosa sind Durchfall, Dysenterie oder gar Amöbome. Als Komplikation können nach disseminierter Streuung Leberabszesse, Lungenabszesse oder in sehr seltenen Fällen sogar Hirnabszesse entstehen, welche unbehandelt meist einen tödlich endenden Verlauf nehmen.

Die klinischen Symptome der akuten intestinalen Form der Amöbiasis sind krampfartige Bauchschmerzen mit Übelkeit und starken Durchfällen mit blutigen und schleimigen Stühlen. Das akute Stadium kann in ein chronisches Stadium mit gelegentlichem Durchfall im Wechsel mit Obstipation, Bauchschmerzen, Übelkeit und Erbrechen übergehen. Es wurden auch völlig symptomlose Zystenausscheider beschrieben.

In etwa 10 % der Fälle einer akuten Amöbendysenterie kommt es zu extraintestinalen Komplikationen wie Leberabszessen oder Befall sonstiger Organe. Bei extraintestinaler Amöbiasis ist ein serologischer Nachweis von Antikörpern angezeigt.

Die Diagnose der intestinalen Amöbiasis kann mittels aufwendiger mikroskopischer Verfahren durch den Nachweis von Zysten und Trophozoiten im Stuhl erbracht werden. Da die Parasitendichte aber sehr gering sein kann, geht man davon aus, dass die Sensitivität dieser Methode bei einer einmaligen Stuhluntersuchung selbst bei erfahrener Personal nur bei 75 % liegt. Zudem besteht die Gefahr der Verwechslung von Entamoeba mit Zellen des Darmepithels, mit Granulozyten, Makrophagen und Pilzen.

Einen großen Vorteil bieten hier sensitive immunologische Testverfahren wie der vorliegende Schnelltest mit spezifischen Antikörpern gegen Antigene von Entamoeba. Hierdurch wird die Diagnostik unabhängig von einer subjektiven Beurteilung und sensitiver durch die Erfassung auch von morphologisch nicht mehr identifizierbaren Bestandteilen. Nur die invasive Form von Entamoeba ruft eine Antikörperbildung hervor. Da Antikörpertiter meist gleichzeitig mit Beginn der klinischen Symptomatik nachweisbar sind, kann zur Identifikation von E. histolytica ein spezifischer Antikörper-Nachweis angeschlossen werden. Dieser bietet zudem die Möglichkeit über die Höhe des Titers zwischen intestinaler und extraintestinaler Amöbiasis zu differenzieren, was für die Therapiewahl von Entscheidung ist.

### 3. Testprinzip

Der vorliegende Schnelltest ist ein einstufiger immunchromatografischer Lateral-Flow Test, bei dem gegen Entamoeba gerichtete spezifische Antikörper an rote Latexpartikel gekoppelt sind. Weitere spezifische Antikörper gegen den Erreger sind fest auf der Membran gebunden. Zunächst wird die Stuhlprobe im Extraktionspuffer suspendiert und anschließend sedimentiert. Ein Aliquot des klaren Überstandes der Probe wird auf das Testfeld gebracht, wobei diese dann mit den farbigen Latexpartikeln, an die sich im positiven Falle vorhandenes Antigen bindet, durch die Membran läuft und an der spezifischen Fängerbande gebunden wird.

### 4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 20 Bestimmungen.

Cassette	20 Stk.	20 einzeln verpackte Testkassetten
Buffer	26 ml	Extraktionspuffer, gebrauchsfertig; enthält 0,1 % Natriumazid
Pipet	25 Stk.	Beutel mit 25 Einwegpipetten

Gefahrstoffangabe gemäß Kennzeichnungspflicht. Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) auf [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

## 5. Reagenzien und ihre Lagerung

Die Packung kann bei 2 - 30 °C gelagert werden und ist bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendungsfähig. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden. Ebenso kann eine Verwendungsfähigkeit von Kassetten dann nicht mehr gewährleistet werden, wenn die Umverpackung der einzelnen Kassetten beschädigt ist.

## 6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

### 6.1 Benötigte Reagenzien

Es werden keine zusätzlichen Reagenzien für die Durchführung benötigt.

### 6.2 Benötigtes Laborzubehör

Folgendes Zubehör wird für die Durchführung benötigt:

Zubehör
Probenröhrchen für Stuhlsuspension
Vortex Mixer (optional)
Mikropipette (200 µl – 1000 µl)
Abfallbehälter mit einer 0,5 %igen Natrium-Hypochloritlösung

## 7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten. Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden.

Während des Umgangs mit Reagenzien und Proben persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille) tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften.

Der Probenverdünnungspuffer enthält als Konservierungsmittel Natriumazid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.

Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, müssen genau wie diese mit geeigneten Desinfektionsmitteln (z.B. Natrium-Hypochlorit) behandelt oder mindestens eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

## 8. Sammlung und Lagerung der Proben

Stuhlproben sind in sauberen Behältern ohne irgendwelche Zusätze zu sammeln und vor Testbeginn bei 2 - 8 °C zu lagern. Bei Lagerung von mehr als 3 Tagen muss die Probe bei - 20 °C eingefroren werden (Tab. 1). In diesem Fall wird die Probe vor Testbeginn vollständig aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen der Probe ist zu vermeiden.

**Tab. 1: Probenlagerung**

Unverdünnte Stuhlprobe	
2 - 8 °C	≤ - 20 °C
≤ 3 Tage	> 3 Tage

Wenn rektale Abstriche eingesetzt werden sollen, ist darauf zu achten, dass genügend Stuhlmaterial (ca. 50 mg) zur Testdurchführung vorhanden ist.

## 9. Testdurchführung

### 9.1 Allgemeines

Vor Verwendung sind die Proben, der Extraktionspuffer sowie die Testkassetten auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) zu bringen. Die Testkassetten sollen erst kurz vor Verwendung durch Aufreißen der Umverpackung entnommen werden. Einmal benutzte Kassetten dürfen nicht wiederverwendet werden. Direkte Sonneneinstrahlung während der Testdurchführung ist zu vermeiden.

Überschüssiges Reagenz darf nicht wieder in die Gefäße zurückgegeben werden, da dies zu einer Kontamination führen kann.

### 9.2 Vorbereitung der Proben

In ein gekennzeichnetes Teströhrchen wird 1 ml Extraktionspuffer **Buffer** vorgelegt. Im Falle **flüssiger** Stuhlprobe werden mit der Einwegpipette **Pipet** 100 µl (bis kurz oberhalb der zweiten Verdickung) davon im vorgelegten Puffer suspendiert. Bei **fester** Stuhlprobe werden 50 mg (Volumen einer kleinen Erbse) im Puffer suspendiert. Anschließend muss die Probe gut homogenisiert werden. Dies erfolgt entweder durch mehrfaches Aufsaugen und Ausstoßen der Suspension mit der Einwegpipette **Pipet** oder alternativ durch Mischen auf einem Vortexmixer. Danach die homogene Suspension mindestens **3 Minuten** sedimentieren lassen bis sich ein klarer Überstand bildet.

### 9.3 Proben-Testung

Die der Umverpackung entnommene Testkassette **Cassette** wird auf eine ebene Unterlage gelegt. Anschließend werden vom klaren Überstand der Stuhlsuspension 200 µl mittels Mikropipette oder 4 Tropfen mit der Einwegpipette **Pipet** in die runde Öffnung der Testkassette pipettiert. Es ist darauf zu achten, dass die Flüssigkeit ungehindert durch die Membran läuft. Eventuell mitpipettierte Partikel, die dies behindern können, sind vorher zu entfernen. Nach **5 Minuten** kann das Testergebnis abgelesen werden.

### 10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Der Test ist nur auszuwerten, wenn die Testkassette **vor** dem Einpipettieren der Proben-suspension unversehrt ist und keine farbigen Veränderungen oder Banden darauf zu sehen sind. Ferner muss **nach** der Testinkubation mindestens die **blaue** Kontrollbande sichtbar sein. Erscheint diese nicht, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu prüfen:

- Haltbarkeit der Testkassetten und des verwendeten Extraktionspuffers
- Korrekte Testdurchführung
- Kontamination des Extraktionspuffers

Ist danach bei Wiederholung des Tests mit einer neuen Testkassette die Kontrollbande wiederum nicht sichtbar, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm Distributor.

### 11. Auswertung und Interpretation

Es dürfen maximal zwei Banden erscheinen, von der Probenaufnahmestelle gesehen in folgender Reihenfolge: Eine rote Reaktionsbande und eine blaue Kontrollbande.

**Fehlt die blaue Kontrollbande ist der Test nicht auswertbar und ungültig!**

Folgende Interpretationen sind möglich:

- **Entamoeba positiv** : die **rote** und **blaue** Bande sind sichtbar.
- **Entamoeba negativ** : nur die **blaue** Bande ist sichtbar.
- **Ungültig** : keine Bande ist sichtbar oder eine andere Konstellation als oben beschrieben sowie andere Verfärbungen der Banden. Ebenso sind Banden-Verfärbungen, die erst nach 5 Minuten oder später auftreten ohne diagnostischen Wert und nicht zu beurteilen.

## 12. Grenzen der Methode

Der RIDA<sup>®</sup>QUICK Entamoeba weist Antigen von *Entamoeba histolytica* sensu lato in Stuhlproben nach. Ein Zusammenhang zwischen der Intensität der sichtbaren spezifischen Bande und dem Auftreten oder der Schwere klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden. **Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem klinischen Bild zu interpretieren.**

Ein **positives** Ergebnis schließt die Anwesenheit anderer infektiöser Erreger nicht aus.

Ein **negatives** Ergebnis schließt eine mögliche Infektion mit *Entamoeba histolytica* nicht aus. Es kann durch intermittierende Ausscheidung der Erreger oder durch eine zu geringe Antigenmenge in der Probe verursacht sein. Besteht anamnestisch der begründete Verdacht auf eine Infektion mit dem gesuchten Erreger, sollte eine weitere Stuhlprobe des Patienten untersucht werden.

Ein Überschuss an Stuhlprobe kann bräunliche Banden verursachen anstelle der spezifisch gefärbten Banden. Diese bräunlichen Banden haben keinen diagnostischen Wert. In solchen Fällen ist eine erneute Testung mit einer geringeren Stuhlmenge oder einer weiteren Verdünnung der bereits hergestellten Suspension (klarer Überstand nach Sedimentation) erforderlich, um zu klären, ob der gesuchte Erreger doch in der Probe ist und durch zuviel eingesetzte Stuhlmatrix überlagert wurde.

## 13. Leistungsmerkmale

### 13.1 Klinische Vergleichsstudie

Die Sensitivität von **84,8 %** und Spezifität von **87,4 %** des Entamoeba – Schnellteststreifen stimmen mit den Werten der spezifischen Entamoeba-Testbande in den entsprechenden Parasiten Combi Schnelltests ( N1722 RIDA<sup>®</sup>QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi und N1723 RIDA<sup>®</sup>QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi) überein.

### 13.2 Kreuzreaktivität

Keine der nachfolgend aufgeführten Darmparasiten führten zu einer Kreuzreaktion im RIDA<sup>®</sup>QUICK Entamoeba:










*Entamoeba coli*, *Blastocystis hominis*, *Chilomastix mesnili*, *Endolimax nana*,  
*Entamoeba nana*, *Entamoeba hartmannii*, *Hymenolepsis nana*, *Isospora belli*,  
*Isospora felis*, *Jodamoeba bütschlii*

## 14. Versionsübersicht

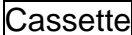


Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2010-08-10	Vorversion
2019-07-10	Generelle Überarbeitung 4. Packungsinhalt 7. Vorsichtsmaßnahmen 8. Sammlung und Lagerung der Proben 9.2 Vorbereitung der Proben

## 15. Symbolerklärung

### Allgemeine Symbole

	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Tests
	Herstelldatum
	Hersteller

### Testspezifische Symbole

	Testkassette
	Extraktionspuffer
	Einwegpipette



## 16. Literatur

1. Bracha, R. et al.: Differentiation of clinical isolates of *Entamoeba histolytica* by using specific DNA probes. *Clin. Microbiol.* 28 (No. 4), 680 - 684 (1990).
2. Citronberg, R. J., Semel, J. D.: Severe vaginal infection with *Entamoeba histolytica* in a woman who recently returned from Mexico: Case report and review. *Clin. Infect. Dis.* 20, 700 - 702 (1995).
3. Espinosa-Cantellano, M., Martinez-Palomo, A.: *Entamoeba histolytica*: Mechanism of surface receptor capping. *Exp. Parasitol.* 79, 424 - 435 (1994).
4. Katzwinkel-Wladarsch, S. et al.: Direct amplification and differentiation of pathogenic and nonpathogenic *Entamoeba histolytica* DNA from stool specimen. *Am. J. Trop. Med.-Hyg.* 51 (1), 115 - 118 (1994).
5. Kean, B. H. et al.: Epidemic of amoebiasis and giardiasis in a biased population. *Brit. J. Ven. Dis.* 55, 375 - 378 (1979).
6. Mannweiler, E.: Immundiagnostik der Amöbiasis. *Der Mikrobiologe* 5. Jg., Heft 6, 194 - 200 (1995).
7. Ohnishi, K. et al.: Brain abscess due to infection with *Entamoeba histolytica*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 51 (2), 180 - 182 (1994).
8. Petter, R. et al.: Characterization of two distinct gene transcripts for ribosomal protein L 21 from pathogenic and nonpathogenic strains of *Entamoeba histolytica*. *Gene* 150, 181 - 186 (1994).
9. Reed, Sh. L.: New Concepts regarding the pathogenesis of amebiasis. *Clin. Infect. Dis.* 21 (Suppl. 2), 182 - 185 (1995).
10. Strachan, W. D. et al.: Immunological differentiation of pathogenic and non-pathogenic isolates of *Entamoeba histolytica*. *Lancet* 12, 561 - 563 (1988).
11. van Lunzen, J., Tannich, E., Burchard, G.-D.: Amöbenruhr und Amöbenleberabszeß. *Deutsches Ärzteblatt* 93, Heft 2, 2659 - 2665 (1996).
12. Schunk, M. et al.: Detection of *Giardia lamblia* and *Entamoeba histolytica* in stool samples by two enzyme immunoassays. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 20, 389 - 391 (2001)