



RIDA[®] QUICK Entamoeba

REF N1703



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt, Alemania
Tel: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. El test rápido RIDA®QUICK Entamoeba es un ensayo inmunocromatográfico para la identificación cualitativa de *Entamoeba histolytica* (sensu lato) en muestras de heces.

2. Resumen y descripción de la prueba

La *Entamoeba histolytica* (sensu lato) puede llegar a infectar cada año hasta 500 millones de personas en el mundo. Las investigaciones en el campo de la genética molecular han demostrado que los protozoos denominados *Entamoeba histolytica* que han sido identificados con los métodos convencionales de diagnóstico, consisten en dos especies no diferenciables morfológicamente, la especie patógena *Entamoeba histolytica* sensu stricto y la especie que hasta hoy se considera no patógena, la *Entamoeba dispar*. Se estima que el 90 % de las infecciones con Entamoeba son producidas por la especie *E. dispar*. Los 40 - 50 millones de casos anuales de colitis amebiana y absceso hepático con sus 80.000 muertes provocadas tienen su origen en la *E. histolytica*.

El ciclo vital de la Entamoeba es relativamente sencillo. La infección se lleva a cabo mediante la ingestión oral de quistes de cuatro núcleos. A partir de ellos se desarrolla en el intestino delgado la forma vegetativa uninuclear del parásito, el trofozoito (forma minuta), el cual efectúa su multiplicación y diferenciación predominantemente en el colon. Se supone que la enquistación se desencadena a causa del medio existente en la región inferior del colon. Los trofozoitos solamente coexisten junto a quistes cuando las heces pasan de forma acelerada por el intestino.

Los síntomas clínicos de una amebiasis se desencadenan al pasar la invasión del parásito de la luz intestinal a las mucosas del colon. Aquí se encuentran con frecuencia trofozoitos con eritrocitos fagocitados. Estos trofozoitos se denominan forma magna por su tamaño. Las consecuencias de la invasión de la mucosa intestinal son diarrea, disentería o incluso formación de amebomas. Como complicación de la diseminación pueden surgir abscesos hepáticos, abscesos pulmonares o también, aunque más raramente, incluso abscesos cerebrales, los cuales si no se tratan a tiempo pueden provocar la muerte.

Los síntomas clínicos de la forma intestinal aguda de la amebiasis son calambres abdominales con náuseas y diarreas intensas y mucosanguinolentas. El estado agudo puede convertirse en estado crónico con diarreas ocasionales alternando con constipación, dolores abdominales, náuseas y vómitos. Se han descrito también casos de sujetos totalmente asintomáticos excretores de quistes.

Alrededor del 10% de los casos con una disentería amebiana aguda llega a padecer de complicaciones extraintestinales como abscesos hepáticos o infección a otros órganos. En los casos de amebiasis extraintestinal está indicado un análisis serológico de anticuerpos.

El diagnóstico de la amebiasis intestinal se puede realizar con ayuda de técnicas microscópicas costosas para la identificación de los quistes y los trofozoitos en las heces. Debido a que la densidad de parásitos puede ser muy baja, se asume que la sensibilidad de este método en una investigación individual de las heces, aun con personal experimentado, generalmente no pasa del 75 % de efectividad. En adición a esto existe también el riesgo de la confusión de Entamoeba con células del epitelio intestinal, con granulocitos, macrófagos u hongos.

Una gran ventaja brindan en este caso los procedimientos analíticos inmunológicos de gran sensibilidad, como el presente ensayo rápido con anticuerpos específicos contra antígenos de Entamoeba. De esta forma es posible un diagnóstico sin depender de valoraciones subjetivas y con una mayor sensibilidad, ya que es posible abarcar en el análisis a componentes morfológicamente no identificables de otro modo. Solamente la forma invasiva de Entamoeba provoca la formación de anticuerpos. Debido a que el título de anticuerpos en la mayoría de los casos ya es detectable al comienzo de la sintomatología clínica, es posible servirse de un estudio de anticuerpos específicos para la identificación de *E. histolytica*. Un procedimiento de este tipo brinda además la posibilidad de diferenciar, según el nivel de anticuerpos, entre una amebiasis intestinal y una extraintestinal, lo que es decisivo para la elección de la terapia a seguir.

3. Principio de la prueba

El presente test rápido es un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral de un solo paso, en el cual los anticuerpos específicos dirigidos contra Entamoeba están acoplados a partículas rojas de látex. Otros anticuerpos específicos contra el agente patógeno están unidos firmemente sobre la membrana. Primeramente se suspende la muestra de heces en el buffer de extracción y se deja sedimentar. Una parte alícuota del sobrenadante claro de la muestra se deposita sobre el área reactiva, se adhiere a las partículas coloreadas de látex y en caso positivo se enlaza al antígeno presente en la muestra; atraviesa la membrana y se acopla a la banda específica de captura.

4. Reactivos suministrados

Los reactivos de un envase alcanzan para 20 determinaciones.

Cassette	20 determ.	20 Casetes de ensayo envasados individualmente
Buffer	26 ml	Buffer de extracción, listo para el uso; contiene azida de sodio al 0,1 %
Pipet	25 piezas	Bolsa con 25 pipetas desechables

Las sustancias peligrosas se indican de acuerdo a las obligaciones de etiquetado. Para obtener más información, consultar las hojas de datos de seguridad (SDS www.r-biopharm.com).

5. Instrucciones de almacenamiento

El envase se puede conservar entre 2 - 30 °C y se puede usar hasta la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta. Después de la fecha de vencimiento no se asumen garantías de calidad. Del mismo modo tampoco se puede garantizar la idoneidad de uso para casetes cuyo envase exterior individual haya sido dañado.

6. Reactivos necesarios no suministrados

6.1 Reactivos necesarios

No se necesitan reactivos adicionales para realizar esta prueba.

6.2 Equipo necesario

Para realizar esta prueba se necesitan los equipos siguientes:

Equipo
Tubitos de muestras para las suspensiones de heces
Agitador Vortex (opcional)
Micropipetas (200 µl – 1000 µl)
Recipiente de desechos con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5 %

7. Advertencias y precauciones para los usuarios

Sólo para el diagnóstico *in vitro*.

Este test debe ser realizado solamente por personal calificado de laboratorio. Se deben observar las líneas directivas de trabajo para laboratorios médicos. Las instrucciones para el uso del test deben cumplirse estrictamente. No se debe pipetear las muestras o reactivos con la boca, así como también evitar el contacto con piel lesionada o mucosas. Evitar el contacto con heridas de la piel y membranas mucosas. Llevar equipo de protección personal (guantes, delantal, lentes de seguridad adecuados) al manipular los reactivos y las muestras, y lavarse las manos después de finalizar la prueba. En los locales donde se trabaje con las muestras no está permitido fumar, comer o beber.

Para obtener más información, consultar las hojas de datos de seguridad (SDS www.r-biopharm.com).

Los reactivos y el material usados deben desecharse de forma correcta y responsable. Respetar la normativa nacional en materia de eliminación de residuos.

El buffer de dilución de muestras contiene azida de sodio como agente conservante. Se debe evitar, por tanto, el contacto con la piel o mucosas.

Es necesario que todos los materiales y reactivos que entren en contacto con muestras potencialmente infecciosas se sometan a un tratamiento con agentes desinfectantes adecuados (por ej. hipoclorito de sodio) o se esterilicen en autoclave por lo menos durante una hora a 121 °C.

8. Obtención y almacenamiento de muestras

Las muestras de heces se deben coleccionar en recipientes limpios sin ningún tipo de aditivo y conservar entre 2 – 8 °C antes del comienzo del test. Si se guarda por más de 3 días, la muestra se debe congelar a -20 °C (Tabla 1). En este caso la muestra se descongela completamente antes del inicio del test y se lleva a temperatura ambiente. Evite congelar y descongelar las muestras varias veces.

Tabla 1: Almacenamiento de muestras

Muestras de heces sin diluir	
2 - 8 °C	≤ - 20 °C
≤ 3 días	> 3 días

Si se van a utilizar frotis rectales se debe prestar atención a que haya suficiente material de heces (aprox. 50 mg) para la realización del test.

9. Ejecución de la prueba

9.1 Información general

Las muestras, el buffer de extracción y los casetes de prueba deben adaptarse a la temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes de proceder a utilizarlos. Los casetes del ensayo sólo deben extraerse del envase exterior poco antes de su uso. Los casetes que se hayan usado una vez no se deben volver a utilizar. Se debe evitar la incidencia directa de la luz solar durante la realización del test.

Las cantidades sobrantes de reactivo no se deben retornar a los frascos, ya que esto puede provocar una contaminación.

9.2 Preparación de las muestras

En un tubo de ensayo rotulado se vierte 1 ml de buffer de extracción **Buffer**. En el caso de una muestra **líquida** de heces se aspiran con una pipeta desechable **Pipet** 100 µl (tomando hasta un poco por encima del segundo espesamiento) y se hace una suspensión en el tubo de ensayo con el buffer. En el caso de muestras **sólidas** de heces se toman 50 mg (volumen de un guisante pequeño) y se suspenden en el

buffer. Acto seguido se debe homogeneizar bien la muestra. Esto se efectúa mediante la aspiración y expulsión repetida de la suspensión con la pipeta desechable **Pipet** o alternativamente por agitación en un mezclador Vortex. Después se deja sedimentar la suspensión homogénea al menos **3 minutos** hasta que se forme un sobrenadante claro.

9.3 Análisis de las muestras

El casete de ensayo **Cassette** que se ha extraído del envase se coloca sobre una superficie plana. Acto seguido se toman del sobrenadante claro de la suspensión de heces 200 µl con la micropipeta o 4 gotas con la pipeta desechable **Pipet** y se transfieren al casete a través del orificio circular de entrada. Se debe prestar atención a que el líquido fluya sin impedimento a través de la membrana. Las partículas que eventualmente hayan sido pipeteadas y pudieran impedir esto, deben ser eliminadas previamente. Después de **5 minutos** se puede leer el resultado.

10. Control de calidad: indicación de inestabilidad o deterioro de los reactivos

El test sólo debe evaluarse si el casete de ensayo está intacto **antes** de pipetear la suspensión de la muestra y no se ven en él cambios de coloración o bandas. Además, es imprescindible que se vea **después** de la etapa de incubación del test por lo menos la banda **azul** de control. Si ésta no aparece, se deben hacer las siguientes comprobaciones antes de repetir el test:

- Durabilidad de los casetes de ensayo y del buffer de extracción utilizado
- Ejecución correcta del test
- Contaminación del buffer de extracción

Si entonces en la repetición del test con un nuevo casete tampoco es visible la banda de control, usted. se debe dirigir al fabricante o a su distribuidor local de R-Biopharm.

11. Evaluación e interpretación

Como máximo, solamente deben aparecer dos bandas, vistas desde el punto de absorción de la muestra y en el siguiente orden: Una banda roja de la reacción con la muestra y una banda azul de control. **¡Si no aparece la banda azul de control el test no es evaluable y por tanto inválido!**

Las siguientes interpretaciones son posibles:

- **Entamoeba positivo:** son visibles las bandas **roja** y **azul**.
- **Entamoeba negativo:** sólo la banda **azul** es visible.
- **Inválido:** No hay bandas visibles o existe otra situación diferente a la descrita más arriba, así como otras coloraciones de las bandas. Igualmente, si hay coloraciones de bandas que aparecen después de 5 minutos o más tarde, éstas se deben evaluar como carentes de valor diagnóstico.

12. Limitaciones del método

El ensayo RIDA[®]QUICK Entamoeba identifica el antígeno de la Entamoeba histolytica sensu lato en muestras de heces. No es posible establecer una relación entre la intensidad de la banda específica visible y la manifestación o gravedad de síntomas clínicos. **Los resultados obtenidos siempre deben interpretarse de conjunto con el cuadro clínico.**

Un resultado **positivo** no excluye la presencia de otros agentes infecciosos.

Un resultado **negativo** no excluye una posible infección con Entamoeba histolytica. La causa de ello puede ser una excreción intermitente del agente patógeno o una cantidad demasiado baja de antígeno en la muestra. Si existe la sospecha anamnésica fundada de una infección con el agente patógeno analizado se debe repetir el análisis con otra muestra de heces del paciente.

Un exceso de muestra de heces puede provocar bandas de color pardusco en lugar de las bandas con colores específicos. Estas bandas de color pardusco no tienen valor diagnóstico. En tales casos se debe realizar un nuevo análisis con una cantidad de heces menor o con una dilución mayor de la suspensión ya preparada (sobrenadante claro después de la sedimentación), para esclarecer si el agente patógeno buscado está realmente presente en la muestra y fue enmascarado por usar demasiada matriz de heces.

13. Características de rendimiento

13.1 Estudio clínico comparativo

La sensibilidad de **84,8 %** y la especificidad de **87,4 %** de las tiras reactivas de análisis rápido para Entamoeba coinciden con los valores para la banda específica del test de Entamoeba en los ensayos rápidos combinados para la detección de los parásitos correspondientes (N1722 RIDA[®]QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi y N1723 RIDA[®]QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi).

13.2 Reactividad cruzada

Ninguno de los siguientes parásitos intestinales condujo a una reacción cruzada en el ensayo RIDA[®]QUICK Entamoeba:










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

14. Historial de versiones

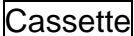


Número de versión	Capítulo y designación
2010-08-10	Versión anterior.
2019-07-10	Revisión general 4. Reactivos suministrados 7. Advertencias y precauciones para los usuarios 8. Obtención y almacenamiento de muestras 9.2 Preparación de las muestras

15. Explicación de los símbolos

Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Obsérvese las instrucciones de uso
	Número de lote
	Utilizable hasta
	Temperatura de almacenamiento
	Número de artículo
	Número de pruebas
	Fecha de fabricación
	Fabricante

Símbolos específicos de prueba

	Casetes
	Buffer de extracción
	Pipetas desechables

16. Referencias bibliográficas

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)