



RIDA[®] QUICK Entamoeba

REF N1703



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



1. Application

Pour le diagnostic *in vitro*. Le RIDA® QUICK Entamoeba est un test rapide immunochromatographique pour caractériser qualitativement l'*Entamoeba histolytica* (sensu lato) dans les échantillons de selles.

2. Résumé et explication du test

Dans le monde entier, l'*Entamoeba histolytica sensu lato* infecte chaque année jusqu'à 500 millions de personnes. Des études de génétique moléculaire ont montré que les protozoaires – portant la dénomination *Entamoeba histolytica* - identifiés avec les méthodes de diagnostic traditionnelles se composent de deux espaces ne pouvant pas être distingués au niveau morphologique, l'espèce pathogène *Entamoeba histolytica* au sens strict et l'espèce *Entamoeba dispar* non pathogène selon les connaissances scientifiques actuelles. Environ 90 % des infections par Entamoeba sont causées par l'*E. dispar*. Les 40 – 50 millions de cas annuels environ de colite amibienne ou d'abcès du foie avec 80 000 cas mortels sont causés par l'*E. histolytica*.

Le cycle vital de l'Entamoeba est relativement simple. L'infection s'effectue par absorption orale de kystes à quatre noyaux. Ceux-ci entraînent la formation dans l'intestin grêle de la forme végétative à un noyau du parasite, le trophozoïte (forme minuta) qui se multiplie et différencie principalement dans le côlon. Ces trophozoïtes s'enkystent vraisemblablement en raison du milieu dans la zone inférieure du côlon. Les trophozoïtes ne seront trouvés dans les selles en plus des kystes qu'en cas de passage accéléré de l'intestin.

Les symptômes cliniques d'une amibiase sont déclenchés par l'invasion du parasite allant du lumen dans la muqueuse du côlon. On trouve alors souvent des trophozoïtes avec des érythrocytes phagocytés. Ces trophozoïtes sont désignés sous la forme magna en raison de leur dimension. Les conséquences de l'invasion dans la muqueuse intestinale sont la diarrhée, la dysenterie et même les amoebomes. Après une diffusion disséminée, des abcès du foie, des poumons ou dans certains cas très rares des abcès du cerveau peuvent survenir comme complication ; ces maladies devenant mortelles si elles ne sont pas traitées.

Les symptômes cliniques de la forme intestinale aiguë de l'amibiase sont des douleurs abdominales spasmodiques accompagnées de nausées et de fortes diarrhées avec des selles contenant des glaires sanglantes. La phase aiguë peut se transformer en une phase chronique avec des diarrhées occasionnelles alternant avec de la constipation, des douleurs abdominales, des nausées et des vomissements. On a également décrit des excréteurs de kystes n'entraînant vraiment aucun symptôme.

Dans env. 10 % des cas d'une dysenterie amibienne aiguë, des complications extra-intestinales surviennent, comme des abcès du foie ou l'affection d'autres organes. En cas d'amibiase extra-intestinale, une caractérisation sérologique des anticorps est indiquée.

Le diagnostic de l'amibiase intestinale peut être fourni au moyen de procédés microscopiques coûteux à travers la caractérisation des kystes et des trophozoïtes dans les selles. Puisque l'épaisseur des parasites peut être très faible, on suppose que la sensibilité de cette méthode n'est que de 75 % avec un examen unique des selles réalisé par des personnes expérimentées. En outre, on risque de confondre l'Entamoeba avec les cellules d'un dermatophyte, avec des granulocytes, des macrophages et des champignons.

Les procédés de test immunologiques sensitifs, tels que le présent test rapide avec des anticorps spécifiques contre les antigènes d'Entamoeba, sont nettement plus avantageux. En effet, le diagnostic est indépendant d'un jugement subjectif et est plus sensible en raison de la saisie des composants ne pouvant plus être identifiés sur le plan morphologique. Seule la forme invasive de l'Entamoeba provoque une formation d'anticorps. Puisque le titrage des anticorps peut être caractérisé la plupart du temps en même temps que le début des symptômes cliniques, il est possible d'utiliser également pour identifier l'*E. histolyca* une caractérisation des anticorps spécifiques. Celle-ci offre de plus la possibilité via le niveau du titrage d'effectuer une distinction entre une amibiase intestinale et une amibiase extra-intestinale, ce qui est important pour le choix de la thérapie.

3. Principe du test

Le présent test rapide est un test à débit latéral immunochromatographique à un niveau, dans lequel les anticorps spécifiques dirigés contre l'Entamoeba sont couplés à des particules rouges de latex. D'autres anticorps spécifiques contre l'agent pathogène sont liés de manière fixe à la membrane. Dans un premier temps, l'échantillon de selles est mis en suspension dans le tampon d'extraction puis est mis en sédimentation. Un aliquote du liquide clair du dessus du prélèvement est versé sur la zone de test, le prélèvement passant à travers la membrane avec les particules colorées de latex, sur lesquelles – dans un cas positif - l'antigène présent se lie, puis se liant à la bande collectrice spécifique.

4. Contenu du paquet

Les réactifs d'un emballage suffisent à 20 déterminations.

Cassette	20 déterm.	20 cassettes de test sous emballage individuel
Buffer	26 ml	Tampon d'extraction, prêt à l'emploi : contient 0,1 % d'azide de sodium
Pipet	25 pcs	Sachet avec 25 pipettes à usage unique

Les substances dangereuses sont signalées conformément aux dispositions d'étiquetage obligatoires. Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS www.r-biopharm.com).

5. Instructions de conservation des réactifs

Le paquet peut être entreposé à 2 – 30° C et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Lorsque la date de péremption est atteinte, aucune garantie de qualité ne peut plus être acceptée. L'utilisation possible des cassettes ne peut plus non plus être garantie lorsque l'emballage individuel des cassettes est altéré.

6. Réactifs requis, mais non fournis

6.1 Réactifs nécessaires

Aucun réactif supplémentaire n'est nécessaire pour effectuer ce test.

6.2 Matériel de laboratoire nécessaire

Le matériel suivant est nécessaire pour effectuer ce test :

Matériel
Tubes à essai pour suspension de selles
Mélangeur Vortex (en option)
Micropipette (200 µl – 1000 µl)
Poubelle avec une solution d'hypochlorite au sodium à 0,5 %

7. Mesures de précaution

Uniquement pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test ne doit être effectué que par un personnel de laboratoire formé. Les directives concernant le travail dans des laboratoires médicaux doivent être respectées. La notice d'utilisation de réalisation du test doit être respectée rigoureusement. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs avec la bouche, éviter tout contact sur des lésions de la peau ou sur des muqueuses. **Lors de la manipulation des réactifs et des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, tablier, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test.** Ne pas fumer, manger ou boire dans les locaux dans lesquels les échantillons sont manipulés.

Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) à l'adresse www.r-biopharm.com.

Après utilisation, veiller à mettre au rebut tous les réactifs et matériels d'une manière adéquate et responsable. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

Le tampon de dilution des échantillons contient de l'azide de sodium comme agent conservateur. Tout contact avec la peau ou les muqueuses doit être évité.

Tous les réactifs et les matériaux, pouvant entrer en contact avec des échantillons potentiellement infectieux, doivent être traités comme ces derniers avec des désinfectants adéquats (par ex. hypochlorite de sodium) ou être passés à l'autoclave au minimum pendant une heure à 121° C.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Les échantillons de selles doivent être collectés dans des récipients propres sans un quelconque additif et doivent être stockés à 2 – 8° C avant le début du test. En cas de stockage de plus de 3 jours, l'échantillon doit être surgelé à –20° C (Tableau 1). Dans ce cas, l'échantillon est entièrement décongelé avant le début du test et est amené à température ambiante. Il faut éviter de congeler et de décongeler plusieurs fois l'échantillon.

Tab. 1: Conservation des échantillons

Échantillons de selles non dilués	
2 - 8 °C	≤ - 20 °C
≤ 3 jours	> 3 jours

Lorsqu'il est nécessaire d'utiliser des frottis rectaux, il faut veiller à disposer d'une quantité nécessaire de selles pour effectuer le test (env. 50 mg).

9. Réalisation du test

9.1 Informations générales

Avant d'utiliser le test, les échantillons, le tampon d'extraction et les cassettes de test doivent être amenés à température ambiante (20 - 25° C). Les cassettes de test doivent être retirées juste avant être d'utilisée de leur emballage en déchirant ce dernier. Les cassettes utilisées ne doivent pas être réutilisées. Tout rayonnement direct du soleil au cours de la réalisation du test doit être évité.

Le réactif excédentaire ne doit pas être reversé dans le récipient puisque cela pourrait entraîner une contamination.

9.2 Préparation des échantillons

On verse dans un tube à essai marqué 1 ml de tampon d'extraction **Buffer**. Dans le cas d'un échantillon de selles liquides, 100 µl sont mis en suspension avec la pipette **Pipet** à usage unique dans le tampon préparé (s'arrêter juste au-dessus du deuxième gonflement). En cas d'échantillon de selles solides, 50 mg (volume d'un petit poids) sont mis en suspension dans le tampon. L'échantillon doit ensuite être bien homogénéisé. Il est nécessaire pour ce faire d'aspirer plusieurs fois et d'expulser la suspension avec la pipette à usage unique **Pipet** ou de la mélanger avec un mélangeur Vortex. La suspension homogène doit ensuite être mise en

sédimentation pendant 3 minutes au minimum jusqu'à ce qu'un liquide clair se forme au-dessus.

9.3 Test du prélèvement

La cassette de test retirée de l'emballage **Cassette** est posée sur une surface plane. 200 µl du liquide clair du dessus de la suspension de selles sont ensuite pipetés au moyen de la micropipette ou 4 gouttes sont pipetées avec la pipette à usage unique **Pipet** dans l'ouverture ronde de la cassette de test. Le liquide doit s'écouler dans problème à travers la membrane. Les particules éventuellement pipetées simultanément et pouvant entraver ce passage doivent être retirées au préalable. Au bout de **5 minutes**, le résultat du test peut être lu.

10. Contrôle qualité – signes d'instabilité ou de détérioration des réactifs

Ce test ne peut être exploité que lorsque la cassette de test est intacte **avant** d'être pipetée dans la suspension réalisée du prélèvement et lorsqu'elle ne présente aucune altération de couleur ou aucune bande de couleur. De plus, **à l'issue** de l'incubation test, la bande de contrôle bleue doit être au minimum visible. Si celle-ci n'apparaît pas, il convient de contrôler les éléments suivants avant de renouveler le test :

- Conservation des cassettes de test et du tampon d'extraction utilisé
- Réalisation correcte du test
- Contamination du tampon d'extraction

Lors du renouvellement du test avec une nouvelle cassette de test, si la bande de contrôle n'est toujours pas visible, il faut vous adresser au fabricant ou à votre distributeur local R-Biopharm.

11. Évaluation et interprétation

Au maximum deux bandes peuvent apparaître, en étant aperçues de l'endroit de prélèvement de l'échantillon et dans l'ordre suivant : une bande de réaction rouge et une bande de contrôle bleue. **Si la bande de contrôle bleue manque, le test ne peut pas être analysé et n'est plus valable!**

Les interprétations suivantes sont possibles:

- **Entamoeba positif** : les bandes **rouge** et **bleue** sont visibles.
- **Entamoeba négatif** : seule la bande **bleue** est visible.
- **Non valable** : aucune bande n'est visible ou une autre constellation que celle décrite ci-dessus et d'autres altérations de couleurs des bandes sont présentes. De plus, les colorations des bandes, survenant au bout de 5 minutes ou ultérieurement, n'influent pas sur le diagnostic et ne doivent pas être analysées.

12. Limites de la méthode

Le RIDA[®]QUICK Entamoeba présente un antigène de l'Entamoeba histolytica sensu lato dans les échantillons de selle. Il n'est pas possible d'en déduire un rapport entre l'intensité des bandes spécifiques visibles et l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques. **Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés en liaison avec le tableau clinique.**

Un résultat **positif** n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes infectieux.

Un résultat **négatif** n'exclut pas une éventuelle infection due à l'Entamoeba histolytica. Il peut être causé par l'élimination intermittente de l'agent pathogène ou par une quantité trop faible d'antigène dans l'échantillon. Si, sur le plan de l'anamnèse, une infection avec l'agent pathogène recherché est soupçonnée avec raison, un autre prélèvement de selles du patient doit être examiné.

Un excédent de prélèvement de selles peut entraîner des bandes de couleur marron à la place des bandes colorées spécifiquement. Ces bandes marrons n'influent pas sur le diagnostic.

Dans de tels cas, un autre test est nécessaire en utilisant une quantité de selles plus faible ou une nouvelle dilution de la suspension déjà réalisée (liquide clair au-dessus après la sédimentation) afin de déterminer si l'agent pathogène recherché se trouve vraiment dans le prélèvement et a été recouvert par une quantité trop élevée de matrice utilisée de selles.

13. Performances

13.1 Etudes comparatives cliniques

La sensibilité de **84,8 %** et la spécificité de **87,4 %** de la bande de test rapide Entamoeba correspondent aux valeurs de la bande test spécifique Entamoeba dans les tests rapides Combi pour parasites (N1722 RIDA[®]QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi et N1723 RIDA[®]QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi).

13.2 Réactivité croisée

Aucun des parasites intestinaux énumérés ci-après n'entraîne de réaction croisée dans le RIDA[®]QUICK Entamoeba:

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

14. Historique des versions

Numéro de version	Chapitre et désignation
2010-08-10	Version précédente
2019-07-10	Révision générale 4. Contenu du paquet 7. Mesures de précaution 8. Prélèvement et conservation des échantillons 9.2 Préparation des échantillons

15. Signification des symboles

Symboles généraux

	Pour le diagnostic <i>in-vitro</i>
	Respecter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

Symboles spécifiques au test

	Cassette de test
	Tampon d'extraction
	Pipette à usage unique

16. Bibliographie

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)