

RIDA® QUICK Entamoeba

REF N1703



1. Campo di applicazione

Per diagnostica *in vitro*. Il RIDA®QUICK Entamoeba è un test rapido immunocromatografico per la rilevazione qualitativa di *Entamoeba histolytica* (sensu lato) in campioni di feci.

2. Sintesi e spiegazione del test

Ogni anno, l'***Entamoeba histolytica sensu lato*** infetta fino a 500 milioni di persone su scala mondiale. Da ricerche di genetica molecolare è emerso che i protozoi, contraddistinti come *Entamoeba histolytica* mediante tradizionali metodi diagnostici, sono costituiti da due specie morfologicamente non distinguibili, la specie patogena *Entamoeba histolytica sensu stricto* e, secondo l'attuale stato di conoscenza, la specie apatogena *Entamoeba dispar*. Si stima che il 90 % delle infezioni da *Entamoeba* sono provocate dall'*E. dispar*. I casi annuali causati dalla *E. histolytica*, sono pari a circa 40 - 50 milioni con colite da ameba o ascesso epatico, con 80.000 decessi.

Il ciclo di vita dell'*Entamoeba* è relativamente semplice. L'infezione avviene per assunzione orale di cisti a quattro nuclei. Da queste ultime si sviluppa una forma vegetativa mononucleare del parassita nell'intestino tenue, il trofozoita (forma Minuta), che si moltiplica e differenzia soprattutto nel colon. Il processo di incistazione si verifica presumibilmente attraverso l'area intestinale inferiore. I trofozoiti si trovano insieme alle cisti solo nel caso di accelerazione del transito intestinale delle feci.

La sintomatologia clinica di una amebiasi è provocata dall'invasione del parassita dal lume intestinale nella mucosa del colon. In quest'area si trovano spesso trofozoiti con eritrociti fagocitati. Questa forma di trofozoiti è denominata Magna a causa della loro dimensione. A seguito dell'invasione a livello della mucosa intestinale, si verificano affezioni diarroiche, dissenteria o persino amebomi. Come complicanze a seguito di diffusione disseminata, possono verificarsi ascessi epatici, polmonari o, in rari casi, persino ascessi cerebrali, che, se non trattati, provocano nella maggior parte dei casi un decorso mortale.

I sintomi clinici della forma intestinale acuta della amebiasi sono dolori di stomaco crampiformi associati a nausea e forte diarrea con feci contenenti sangue e muco. Lo stadio acuto può trasformarsi in cronico con diarrea occasionale alternata a costipazione, mal di stomaco, nausea e vomito. Sono stati anche descritti portatori di cisti completamente asintomatici.

In circa il 10 % dei casi, una dissenteria da ameba acuta comporta complicanze extraintestinali quali ascessi epatici o coinvolgimento di alcuni organi. Nel caso di amebiasi extraintestinale, esiste l'evidenza sierologica di anticorpi.

La diagnosi dell'amebiasi intestinale può essere condotta per mezzo di tradizionali metodologie microscopiche mediante la rilevazione di cisti e trofozoiti nelle feci. Tuttavia, dato che lo spessore del parassita può essere estremamente esiguo, si presuppone che la sensibilità di questo metodo, nel caso di un singolo esame delle

feci, sia pari al 75 % anche se eseguito da personale esperto. Inoltre, sussiste il pericolo di scambiare l'entamoeba con cellule epiteliali intestinali, granulociti, macrofagi e funghi.

Procedure di test immunologici sensibili offrono un notevole vantaggio in tale ambito, come questo test rapido con anticorpi specifici anti antigene della entamoeba. In tal modo la diagnostica diventa indipendente dalla valutazione soggettiva e più sensibile grazie alla identificazione di componenti anche morfologicamente non più identificabili. Solo la forma invasiva della entamoeba genera la formazione di anticorpi. Dato che i titoli degli anticorpi sono prevalentemente rilevabili contestualmente all'inizio della sintomatologia clinica, per l'identificazione della *E. histolytica* può essere impiegato un metodo di rilevazione specifica degli anticorpi. Ciò offre inoltre la possibilità di differenziare, a seconda dell'entità del titolo, tra amebiasi intestinale ed extraintestinale, fattore determinante per la scelta della terapia.

3. Principio del test

Il presente test rapido è un test Lateral-Flow immunocromatografico monofase, nel quale anticorpi specifici mirati anti Entamoeba sono accoppiati a particelle di lattice rosse. Altri anticorpi specifici contro l'agente patogeno sono saldamente fissati alla membrana. In primo luogo sospendere il campione di feci nel tampone di estrazione e quindi sedimentare. Applicare sulla striscia per test una aliquota di supernatante chiaro di campione che, insieme con le particelle di lattice colorate, alle quali si lega l'antigene presente nei casi positivi, scorre attraverso la membrana per poi legarsi alla banda di raccolta specifica.

4. Contenuto della confezione

I reagenti di una confezione bastano per 20 determinazioni.

Cassette	20 Det.	20 cassette per test confezionate singolarmente
Buffer	26 ml	Tampone di estrazione, pronto per l'uso; contiene 0,1 % di azoturo di sodio
Pipet	25 Pezzi	Busta con 25 pipette monocanale

Le sostanze pericolose sono indicate in base ai requisiti di etichettatura. Per ulteriori dettagli consultare le schede dei dati di sicurezza (SDS www.r-biopharm.com).

5. Istruzioni di conservazione

La confezione può essere conservata a 2 – 30 °C ed è utilizzabile fino alla data di scadenza stampata. Dopo la data di scadenza, non può essere più fornita alcuna garanzia di qualità. Analogamente, la funzionalità delle cassette non può essere garantita, se l'imballaggio delle singole cassette è danneggiato.

6. Reagenti necessari ma non in dotazione

6.1 Reagenti necessari

Non sono necessari reagenti aggiuntivi per eseguire questo test.

6.2 Attrezzatura di laboratorio necessaria

Per eseguire questo test è necessaria la seguente attrezzatura:

Attrezzatura
Anse di inoculazione per sospensione fecale
Miscelatore vortex (opzionale)
Micropipetta (200 µl – 1000 µl)
Contenitore di rifiuti con soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5 %

7. Avvertenze e misure precauzionali

Solo per diagnostica *in vitro*.

Questo test deve essere condotto esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le disposizioni per il lavoro nei laboratori medici. Attenersi rigorosamente alle istruzioni per l'uso nell'esecuzione del test. Non introdurre con la bocca campioni o reagenti mediante pipetta, evitare il contatto con la cute lesa o con le mucose. **Durante la manipolazione di campioni e reagenti indossare gli appositi dispositivi di protezione individuale (guanti, grembiule e occhiali di protezione adatti) e lavarsi le mani dopo aver eseguito il test.** Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si opera con i campioni.

Per ulteriori dettagli consultare le schede dei dati di sicurezza (SDS www.r-biopharm.com).

Garantire uno smaltimento idoneo e responsabile di tutti i reagenti e i materiali dopo l'uso. Per lo smaltimento attenersi alle disposizioni nazionali.

Il tampone di diluizione dei campioni contiene azoturo di sodio come conservante. Evitare il contatto con la pelle o con le mucose.

Tutti i reagenti e materiali che entrano in contatto con campioni potenzialmente infettivi devono essere trattati, esattamente come i campioni, con adeguato disinfettante (ad es. ipoclorito di sodio) o sottoposti a sterilizzazione a vapore per almeno un'ora a 121 °C.

8. Raccolta e conservazione dei campioni

I campioni di feci devono essere raccolti in contenitori puliti senza alcuna aggiunta e devono essere conservati prima dell'inizio del test a 2 – 8 °C. In caso di conservazione per più di 3 giorni, il campione deve essere congelato a - 20 °C (Tabella 1). In questo caso scongelare completamente il campione prima dell'inizio del test e portare a temperatura ambiente. Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento del campione.

Tabella 1: Conservazione del campione

Campioni di feci non diluiti	
2 - 8 °C	≤ - 20 °C
≤ 3 giorni	> 3 giorni

Nell'inserimento dei prelievi rettali, assicurarsi che sia presente una quantità sufficiente di materiale fecale (ca. 50 mg) per l'esecuzione del test.

9. Esecuzione del test

9.1 Informazioni generali

Prima dell'utilizzo portare campioni, tampone di estrazione e cassette per test a temperatura ambiente (20 – 25 °C). Le cassette per test devono essere rimosse dall'imballaggio con apertura a strappo solo poco prima dell'utilizzo. Le cassette usate non possono essere riutilizzate. Evitare l'esposizione diretta all'irradiazione solare durante l'esecuzione del test.

Il reagente in eccesso non deve essere nuovamente riposto nei contenitori, in quanto ciò potrebbe causare contaminazione.

9.2 Preparazione dei campioni

Introdurre in una provetta graduata 1 ml di tampone di estrazione **Buffer**. In caso di campioni di feci **liquide** sospendere 100 µl di campione con la pipetta monocolana **Pipet** (fino a superare di poco il secondo spessore) nell'apposito tampone. In caso di campioni di feci **solide** sospendere 50 mg (del volume di un piccolo pisello) nel tampone. Quindi omogeneizzare bene il campione. L'omogeneizzazione avviene per introduzione ed espulsione ripetuta della sospensione mediante la pipetta monocolana **Pipet** o in alternativa miscelando con un miscelatore vortex. Lasciare

quindi sedimentare la sospensione omogeneizzata per almeno **3 minuti** fino a quando non si forma un supernatante chiaro.

9.3 Esame dei campioni

Riporre la cassetta **Casette** per test rimossa dall'imballaggio su superficie piana. Introdurre nell'apertura di inserimento rotonda della cassetta per test 200 µl di supernatante chiaro di sospensione fecale mediante micropipetta o 4 gocce mediante la pipetta monocanale Pipet. Assicurarsi che il liquido fluisca liberamente attraverso la membrana. Rimuovere precedentemente eventuali particelle introdotte mediante pipetta che potrebbero ostacolare tale flusso. Il risultato del test può essere letto dopo **5 minuti**.

10. Controllo qualità: indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

Il test deve essere valutato, solo quando la cassetta per test prima della introduzione mediante pipetta della sospensione di campione è intatta e non siano presenti alcune variazioni o striature cromatiche. Inoltre dopo l'incubazione del test deve essere visibile almeno la banda di controllo blu. Qualora quest'ultima non appaia, prima di ripetere il test occorre verificare quanto segue:

- periodo di conservazione delle cassette per test e del tampone di estrazione utilizzato
- corretta esecuzione del test
- contaminazione del tampone di estrazione

Qualora dopo la ripetizione del test con una nuova cassetta per test la banda di controllo non sia nuovamente visibile, rivolgersi al produttore o al proprio distributore locale R-Biopharm.

11. Valutazione e interpretazione

Devono apparire un massimo di due bande, viste nella seguente successione dal punto di prelievo del campione: una banda di reazione **rossa** e una banda di controllo **blu**. **Se manca la banda di controllo blu, il test non è valutabile e non è valido!**

Sono possibili le seguenti interpretazioni:

- **Entamoeba positivo** : le bande **rossa** e **blu** sono visibili.
- **Entamoeba negativo** : è visibile soltanto la banda **blu**.
- **Non valido**: nessuna banda è visibile o è presente un'altra combinazione rispetto a quanto sopra descritto o un'altra colorazione delle bande. Analogamente, non hanno valore diagnostico e non sono da valutarsi cambiamenti di colore delle bande che compaiono solo dopo 5 minuti o oltre.

12. Limiti del metodo

Il RIDA[®]QUICK Entamoeba rileva l'antigene della *Entamoeba histolytica* sensu lato in campioni di feci. Non è possibile dedurre una relazione tra l'intensità delle bande specifiche visibili e l'insorgenza o la gravità della sintomatologia clinica. **I risultati ottenuti devono essere sempre interpretati in relazione al quadro clinico.**

Un risultato **positivo** non esclude la presenza di altri agenti patogeni infettivi.

Un risultato **negativo** non esclude una possibile infezione da *Entamoeba histolytica*. Tale risultato può essere causato dall'espulsione intermittente dell'agente patogeno o dalla quantità troppo scarsa di antigene nel campione. Qualora sussista a livello anamnestico il fondato sospetto di una infezione causata dall'agente patogeno ricercato, occorre esaminare un ulteriore campione di feci.

L'eccesso di campioni di feci può causare bande marroni al posto delle bande colorate specifiche. Tali bande marroni non hanno alcun valore diagnostico. In tal caso è necessario eseguire un nuovo test con una minore quantità di feci o con un'ulteriore diluizione della sospensione già prodotta (supernatante chiaro dopo la sedimentazione), per chiarire se l'agente patogeno ricercato è comunque nel campione e se è stato sommerso da un'eccessiva introduzione di matrice fecale.

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1 Studio clinico comparato

La sensibilità del **84,8 %** e la specificità del **87,4 %** della striscia del test rapido Entamoeba corrispondono ai valori della banda per test specifico Entamoeba dei rispettivi test rapidi per parassiti Combi (N1722 RIDA[®]QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi e N1723 RIDA[®]QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi).

13.2 Reattività incrociata

Nessuno dei seguenti parassiti intestinali ha comportato una reazione incrociata nel RIDA[®]QUICK Entamoeba:










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

14. Cronologia delle versioni




Numero della versione	Capitolo e designazione
2010-08-10	Versione precedente
2019-07-10	Revisione generale 4. Contenuto della confezione 7. Avvertenze e misure precauzionali 8. Raccolta e conservazione dei campioni 9.2 Preparazione della prova dei campioni

15. Descrizione simboli

Simboli generali

	Diagnostica in vitro
	Leggere il foglio illustrativo
	Codice identificativo
	Utilizzabile fino a
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

Simboli specifici del test

	Cassette
	Tampone di estrazione
	Pipette monocanale

16. Bibliografia

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)