

RIDA® QUICK Entamoeba

REF N1703



1. Uso previsto

Para diagnóstico *in vitro*. O RIDA® QUICK Entamoeba é um teste rápido imunocromatográfico para a detecção qualitativa de *Entamoeba histolytica* sensu lato nas amostras de fezes.

2. Sumário e explicação do teste

Anualmente, até 500 milhões de pessoas são infeccionadas com ***Entamoeba histolytica sensu lato***. Os exames moleculares-genéticos demonstraram que os protozoários denominados *Entamoeba histolytica*, identificados com os métodos comuns, são formados de duas espécies não diferenciáveis morfologicamente, a espécie patogénica *Entamoeba histolytica sensu stricto* e a espécie *Entamoeba dispar*, considerada apatogénica de acordo com o conhecimento actual.

Supostamente, 90 % das infecções com Entamoeba são causadas por *E. dispar*. Os casos anuais de aproximadamente 40 - 50 milhões de colite amebiana ou abscesso do fígado com 80.000 de casos mortais são causados por *E. histolytica*.

O ciclo vital da Entamoeba é relativamente fácil. A infecção ocorre através da ingestão oral de cistos com 4 núcleos. Destes cistos, desenvolve-se no intestino delgado a forma vegetativa mononuclear do parasita, o trofozoide (forma minuta), que se multiplica e se diferencia principalmente no intestino grosso. Provavelmente, o encistamento inicia através do ambiente na área inferior do intestino grosso. Os trofozoides encontram-se ao lado dos cistos nas amostras somente com passagem rápida no intestino.

Os sintomas clássicos de uma amebiase são iniciados através da invasão do parasita a partir do lúmen do intestino na mucosa do cólon. Deste modo, encontra-se frequentemente trofozoides com eritrócitos fagocitados. Estes trofozoides são denominados como forma Magna devido à sua dimensão. As consequências da invasão na mucosa intestinal são diarreia, desinteria ou mesmo a amebiase. Como complicação, após a distribuição disseminada podem originar-se abscessos no fígado, abscessos no pulmão ou, em casos muito raros, abscessos no cérebro, que se não tratados, podem levar à morte.

Os sintomas clínicos das formas intestinais agudas da amebiase são dores abdominais em forma de câibras com náusea e forte diarreia, com sangue e mucosas nas fezes. O estado agudo pode passar a um estado crónico com diarreia ocasional, alternada com obstipação, dores abdominais, náusea e vômitos. Foram descritos também portadores de cistos totalmente assintomáticos.

Em aproximadamente 10 % dos casos de uma desinteria amebiana aguda, ocorrem complicações extra-intestinais, como abscessos do fígado ou ataque a outros órgãos. No caso de amebiase extra-intestinal, é demonstrada uma detecção sorológica dos anticorpos.

O diagnóstico da amebiase intestinal pode ser feito através de um trabalhoso processo microscópico com a detecção de cistos e trofozoides nas fezes. Visto que a densidade de parasitas pode ser muito baixa, suponha-se que a sensibilidade

deste método com um único exame de fezes, mesmo com pessoal experiente, é de somente 75 %. Além disso, há o risco de equívoco da Entamoeba com células do epitélio intestinal, cistos granuloma, macrófagos e fungos.

Uma grande vantagem neste caso oferecem os processos de teste imunológicos como o teste rápido disponível com anticorpos específicos contra antígenos de Entamoeba. Para isso, o diagnóstico não depende de uma opinião subjectiva e é mais sensível através da detecção também de componentes morfológicamente não mais identificáveis. Somente a forma invasiva da Entamoeba provoca a formação de anticorpos. Visto que os títulos de anticorpos são detectáveis com o começo dos sintomas clínicos, para a identificação de *E. histolytica* pode-se fazer também a detecção de anticorpos específicos. Isto oferece, além disso, a possibilidade de diferenciar a quantidade do título entre amebiose intestinal extra-intestinal, o que é decisivo para a selecção da terapia.

3. Princípio do teste

O teste rápido disponível é um teste Lateral-Flow imunocromatográfico de nível único, no qual anticorpos específicos dispostos contra Entamoeba são acoplados a partículas de látex vermelhas. Outros anticorpos específicos contra o agente patogénico são ligados firmes na membrana. Depois a amostra de fezes é suspensa no tampão de extracção e então sedimentada. A tira do teste é mergulhada no supernatante claro da amostra, sendo que esta então passa pela membrana com as partículas coloridas de látex, às quais em caso positivo o antígeno disponível se liga, e se une às tiras de captação específicas.

4. Reagentes fornecidos

Os reagentes de uma embalagem são suficientes para 20 doses.

Cassette	20 doses	20 cartuchos de teste embalados individualmente
Buffer	26 ml	Tampão de extracção, pronto para o uso; contém 0,1% azida de sódio
Pipet	25 unidades	Saco com 25 pipetas descartáveis

As substâncias perigosas são indicadas de acordo com as obrigações de marcação. Para mais detalhes, consulte as Folhas de Dados de Segurança (SDS www.r-biopharm.com).

5. Instruções de armazenamento

A embalagem pode ser armazenada a 2 - 30 °C e deve ser usada até a data de expiração impressa. Após a expiração da data de validade, nenhuma garantia de qualidade pode ser oferecida. Do mesmo modo, a capacidade de uso dos cartuchos não pode mais ser garantida se a embalagem dos cartuchos individuais estiver danificada.

6. Reagentes necessários, mas não fornecidos

6.1 Reagentes necessários

Não são necessários reagentes adicionais para realizar esse teste.

6.2 Equipamento laboratorial necessário

Os seguintes equipamentos são necessários para realizar esse teste:

Equipamentos
Tubo de amostra para suspensão de fezes
Vortex mixer (optional)
Micropipeta (200 µl – 1000 µl)
Contentor para lixo com uma solução de hipocloreto de sódio de 0,5 %

7. Avisos e medidas preventivas para os usuários

Apenas para o diagnóstico *in vitro*.

Este teste só deve ser executado por pessoal de laboratório instruído. As regras para o trabalho nos laboratórios médicos devem ser observadas. As instruções de uso para a execução do teste devem ser estritamente seguidas. Não pipetar as amostras ou reagentes com a boca, evitar o contacto com a pele ferida ou mucosas.

Evite o contato com membranas mucosas e pele lesionada. Utilize equipamentos de segurança pessoal (luvas adequadas, jaleco, óculos de segurança) ao manusear os reagentes e amostras e lave as mãos após concluir o teste. Nas áreas, nas quais se trabalha com as amostras, não fumar, comer ou beber.

Para mais detalhes, consulte as Folhas de Dados de Segurança (SDS www.r-biopharm.com).

Certifique-se de descartar de modo adequado e responsável todos os reagentes e materiais após sua utilização. Para o descarte, cumpra com os regulamentos nacionais.

O tampão de diluição de amostra contém azida de sódio como conservante. Deve-se evitar o contacto com a pele ou as mucosas.

Todos os materiais e reagentes, que vêm junto com as amostras potencialmente infecciosas, devem ser manejados com desinfectantes adequados (p. ex. hipocloreto de sódio) ou autoclavados pelo menos 1 hora a 121 °C.

8. Coleta e armazenamento de espécimes

As amostras de fezes devem ser colectadas em frascos limpos sem aditivos e armazenadas antes do teste a 2 – 8 °C. No caso de uma armazenagem de mais de 3 dias, a amostra deve ser congelada a - 20 °C (Tabela 1). Neste caso, a amostra é descongelada totalmente antes do teste e exposta a temperatura ambiente. Deve-se evitar o congelamento e descongelamento repetido das amostras.

Tabela 1: Armazenagem de espécimes

Espécimes de fezes não diluídos	
2 - 8 °C	≤ - 20 °C
≤ 3 dias	> 3 dias

Se forem utilizadas recolhas anais, deve-se observar que material de fezes suficiente (aprox. 50 mg) esteja disponível para o teste.

9. Realização do teste

9.1 Generalidades

Antes da utilização, as amostras, o tampão de extracção e o cartucho do teste devem ser colocados em temperatura ambiente (20 – 25 °C). Os cartuchos de teste só devem ser retirados um pouco antes da utilização abrindo a embalagem. Os cartuchos não podem ser usados mais de uma vez. A luz do sol directa durante a execução do teste deve ser evitada.

O reagente restante não deve ser colocado de volta nos vasos, pois isto pode levar a uma contaminação.

9.2 Preparação das amostras

Em um tubo de amostra marcado, é colocado 1 ml de tampão de extracção **Buffer**. No caso de amostras de fezes **líquidas**, 100 µl destas (um pouco acima do segundo espessamento) com a pipeta descartável **Pipet** no tampão disponível. No caso de amostras de fezes **sólidas**, 50 mg (tamanho de uma pequena ervilha) são suspensos no tampão. Depois, a amostra deve ser bem homogeneizada. Isto é feito através de absorção múltipla e batida da suspensão com a pipeta descartável **Pipet** ou alternativamente através da mistura em um mixer Vortex. Depois, deixar sedimentar a suspensão homogénea pelo menos **3 minutos** até que se forme um supernatante claro.

9.3 Teste das amostras

O cartucho de teste **Cassette** retirado da embalagem é depositado numa superfície plana. Depois são pipetados do supernatante claro da suspensão de fezes 200 µl através da micropipeta ou 4 gotas com a pipeta descartável **Pipet** no orifício redondo do cartucho de teste. Deve-se observar que o líquido passe sem problemas pela membrana. As eventuais partículas pipetadas junto, que possam causar problemas, devem ser retiradas antes. Após **5 minutos** o resultado do teste pode ser lido.

10. Controle de qualidade - indicação de instabilidade ou deterioração dos reagentes

O teste só deve ser avaliado o cartucho de teste estiver intacto antes da pipetagem da suspensão de amostras produzida e não se pode ver modificações ou tiras coloridas. Além disso, após a incubação do teste, pelo menos a tira de controlo azul deve ser visível. Se ela não aparece, antes de repetir o teste deve-se verificar o seguinte:

- Durabilidade dos cartuchos de teste e do tampão de extracção utilizado
- Execução correcta do teste
- Contaminação do tampão de extracção

Se após a repetição do teste com um novo cartucho de teste a tira de controlo não for visível, entre em contacto com o fabricante ou com o seu distribuidor local R-Biopharm.

11. Avaliação e interpretação

Só podem aparecer duas tiras no máximo, vistas da posição de recolha da amostra na seguinte sequência: uma tira de reacção vermelha e uma tira de controlo azul. **Se faltar a tira de controlo azul o teste não é avaliável e é inválido!**

São possíveis as seguintes interpretações:

- **Entamoeba positiva:** as tiras **vermelha** e **azul** são visíveis.
- **Entamoeba negativa:** apenas a tira **azul** é visível.
- **Inválido:** nenhuma tira visível ou uma constelação diferente daquela descrita, bem como outras colorações nas tiras. Do mesmo modo, as colorações das tiras que só aparecem após 5 minutos ou depois não têm valor diagnóstico e não devem ser avaliadas.

12. Limitações do método

O teste RIDA[®]QUICK Entamoeba detecta antígenos de Entamoeba histolytica sensu lato em amostras de fezes. Uma relação entre a intensidade das tiras específicas visíveis e dos sintomas presentes ou altamente clínicos não pode ser ignorada aqui.

Os resultados alcançados devem sempre ser interpretados em conjunto com o quadro clínico.

Um resultado **positivo** não exclui a presença de outros agentes patogénicos infecciosos.

Um resultado **negativo** não exclui uma possível infecção com Entamoeba histolytica. Ele pode ter sido causado pela segregação do agente patogénico ou por uma quantidade muito pequena de antígeno na amostra. Se houver de forma amnésica a suspeita fundada de uma infecção com o agente patogénico procurado, uma outra amostra de fezes do paciente deve ser examinada.

Uma quantidade demasiada de amostra de fezes pode causar tiras marrons ao invés das tiras coloridas com as cores específicas. Estas tiras marrons não têm valor diagnóstico. Nestes casos, é necessário fazer um novo teste com uma quantidade menor de fezes ou uma outra diluição da suspensão já preparada (supernatante claro após a sedimentação), para verificar se o agente patogénico procurado está na amostra ou se foi introduzido em excesso através de quantidade demasiada de matriz de fezes.

13. Características de desempenho

13.1 Estudo clínico comparativo

A sensibilidade de **84,8 %** e a especificação de **87,4 %** da fita de teste rápido Entamoeba estão em concordância com os valores de banda de teste específicos de Entamoeba nos respectivos testes rápidos de Combinação de Parasitas (N1722 RIDA[®]QUICK Cryptosporidium/Giardia/Entamoeba Combi e N1723 RIDA[®]QUICK Cryptosporidium/Giardia/ Entamoeba Combi).

13.2 Actividade cruzada

Nenhum dos parasitas intestinais descritos abaixo levou a uma reacção cruzada em RIDA[®]QUICK Entamoeba:

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










14. Histórico de versões

Número da versão	Capítulo e designação
2010-08-10	Versão anterior
2019-07-10	Revisão geral 4. Reagentes fornecidos 7. Avisos e medidas preventivas para os usuários 8. Coleta e armazenamento de espécimes 9.2 Preparação das amostras




15. Explanation of symbols

15. Explicação dos símbolos

Símbolos gerais

	Para utilização em diagnóstico in vitro
	Respeitar as instruções de utilização
	Número do lote:
	Validade
	Armazenar em
	Número do artigo
	Número de testes
	Data de fabricação
	Fabricante

Símbolos específicos de teste

	Cartucho de teste
	Tampão de extracção
	Pipetas descartáveis

16. Literatura

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)