

ENTAMEBA AG CARD

Per uso diagnostico *in Vitro*

Test rapido *in vitro* per la determinazione di *Entamoeba spp* antigeni in campioni fecali, comprensivo di controllo positivo e negativo

I. INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO

Amebiasi è un'infezione del tratto gastrointestinale umano causata da *Entamoeba histolytica*, un protozoo parassita che è in grado di invadere la mucosa intestinale e può diffondersi in altri organi, soprattutto il fegato. *Entamoeba dispar*, un'ameba morfologicamente simile a *E.histolytica*, anch'essa colonizza l'intestino umano, recentemente riconosciuta come specie potenzialmente non invasiva. L'accettazione di *E.dispar* come una specie protozoica distinta, ma strettamente collegata, ha avuto profonde implicazioni per l'epidemiologia delle amebiasi. La maggior parte delle infezioni asintomatiche riscontrate in tutto il mondo sono ora attribuite a questa ameba non invasiva. Amebiasi invasiva dovuta a *E. histolytica* è più comune nei paesi in via di sviluppo. **Entameba Ag card** è un test rapido immunocromatografico per la determinazione qualitativa di *Entamoeba spp.* antigeni nelle feci umane per aiutare nella diagnosi di amebiasi.

II. PRINCIPIO DEL TEST

Entameba Ag card è un test immunologico qualitativo per la determinazione di *Entamoeba spp* antigeni in campioni di feci umane. La membrana è pre-rivestita nella zona assorbente (pad) con anticorpi monoclonali e policlonali anti-*Entamoeba histolytica*, gli stessi anticorpi sono adsorbiti sulla zona area test. Durante il test il campione reagisce con le particelle rivestite con anti- *Entamoeba* antigeni anticorpi che sono state pre-essiccate sulla striscia reattiva. La miscela si sposta lungo la membrana per azione capillare. Nel caso di un risultato positivo gli anticorpi specifici presenti sulla membrana reagiscono con la miscela di coniugati e generano una banda colorata. Una banda di controllo di colore verde appare sempre (seconda linea) per indicare che è stato aggiunto un volume sufficiente di campione, che è stato ottenuto un corretto flusso e come controllo interno per i reagenti.

III. REAGENTI E MATERIALI Il kit contiene i seguenti componenti:

1. **Entameba Ag card (10)**: ogni card è imbustata singolarmente con essiccante
2. **Diluente-Tampone di estrazione (10x1.0 mL tubi LIQ.EXTR)**: soluzione salina contenente conservante NaN_3 (<0,1%) e tensioattivo.
3. **Controllo Positivo (1 x 0.5 mL)**: N.1 vial con gocciolatore contenente componenti non-infettivi e NaN_3 come conservante.
4. **Controllo Negativo**: usare Diluente-Tampone di estrazione
5. **Istruzioni per l'uso (1)**.

Materiali necessari (non forniti)

Dispositivi per la raccolta dei campioni; Guanti monouso; Pipette gocciolatrici; Cronometro.

IV. PRECAUZIONI

- Per uso diagnostico *in vitro* e per solo uso professionale.
- Non utilizzare il kit oltre la data di scadenza, non utilizzare reagenti provenienti da altri lotti
- Seguire scrupolosamente le istruzioni per l'uso.
- Il test è da considerarsi monouso. Non riutilizzare la card per altri test.
- Il test deve rimanere nella confezione sigillata fino al momento dell'uso.
- Seguire le Buone Pratiche di Laboratorio, indossare indumenti protettivi e guanti monouso, non mangiare bere o fumare nell'area di lavoro.
- Tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente pericolosi e manipolati nello stesso modo di agenti infettivi.
- Il test deve essere eliminato in apposito contenitore in accordo alle Norme vigenti.

V. STOCCAGGIO E STABILITA'

Conservare il dispositivo sigillato ad una temperatura compresa tra 2 e 30 °C (36-86°F). Il kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Il dispositivo deve restare sigillato fino al momento dell'uso. Non congelare.

VI. RACCOLTA CAMPIONI E PREPARAZIONE

I campioni di feci testati entro 2 ore dalla raccolta non richiedono refrigerazione. I campioni non testati entro 2 ore dalla raccolta devono essere conservati a 2-8°C e possibilmente testati entro 24 - 48 ore dalla raccolta. Qualora i campioni non possano essere testati entro 48 ore, conservare in congelatore a $\leq -20^\circ\text{C}$. Non congelare e scongelare ripetutamente i campioni, in quanto ciò potrebbe portare a risultati errati. I campioni conservati in frigorifero devono essere riportati a temperatura ambiente prima dell'uso. I campioni congelati devono essere completamente scongelati e miscelati prima del loro utilizzo.

VII. PROCEDURA ANALITICA

Rivedere istruzioni "di raccolta dei campioni". Non aprire gli involucri fino al momento di eseguire il test. Assicurarsi che tutti i reagenti siano a temperatura ambiente prima di iniziare il dosaggio.

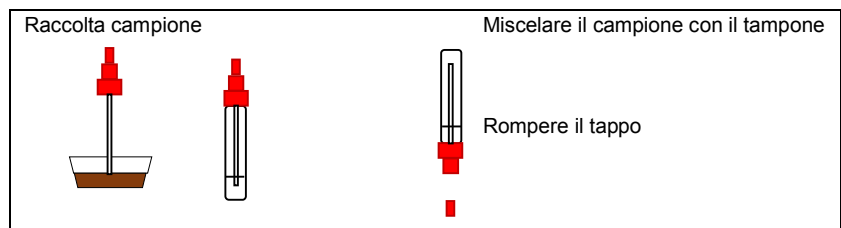
Procedimento per il campione

Usare materiale distinto per ogni campione. Aprire il flacone contenente il tampone di estrazione (1 mL) svitando il tappo. Immergere in 3 punti diversi delle feci raccolte il segmento del tappo con l'estremità zigrinata. Estrarre l'estremità zigrinata dalle feci, e verificare di aver raccolto una piccola parte, pari a un chicco di riso (125-250 mg) delle feci stesse. Riposizionare il tappo sul flacone del tampone di estrazione, così che l'estremità zigrinata si immerga nel liquido stesso. Agitare delicatamente fino ad ottenere una sospensione omogenea. Per feci liquide o semi-solide usare una pipetta di trasferimento, prelevando una quantità di feci dal campione stesso. Dispensare 250 μL del campione fecale nel flacone di liquido di estrazione del campione. Agitare delicatamente su vortex per 15 secondi.

Procedimento del test: Portare i reattivi e il campione a temperatura ambiente prima di effettuare il test.

1. Estrarre la card dalla busta ed usare il prima possibile e usare materiale pulito per ciascun campione.
2. Rompere il tappo del tubo di estrazione.
3. Dispensare 3- 4 gocce di campione (100 μL) nella finestra circolare della card. Far partire il cronometro.
4. Attendere 10 minuti quindi osservare la comparsa di bande colorate nelle finestre contrassegnate con "T" e "C".

Procedimento per i controlli: Per il Controllo Positivo e Negativo utilizzare la stessa procedura (dal punto 3 in poi)



VIII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

POSITIVO: Entameba Ag positivo: compaiono due linee nella finestra centrale: nella zona del risultato (linea del test rosso, segnato nella figura con la lettera T) e nella zona di controllo (linea di controllo verde, segnato nella figura con la lettera C).

NEGATIVO: Solo una banda verde appare nella zona di controllo segnata in figura con la lettera C (linea di controllo).

NON VALIDO: Totale assenza della banda di controllo verde indipendentemente dalla presenza di banda rossa; il volume di campione insufficiente, la procedura non corretta o un deterioramento dei reagenti sono le cause più probabili della mancata comparsa della banda di controllo. Rivedere la procedura e ripetere il test con una nuova card. Se il problema persiste, non utilizzare il kit e contattare il distributore locale.

L'intensità della banda di colore rosso nella zona del risultato varia a seconda della concentrazione di antigeni presenti nel campione.



IX. CARATTERISTICHE DEL TEST

A) Valori attesi

Entamoeba histolytica infetta oltre 500 milioni di persone in tutto il mondo. Dalla sua scoperta, è stato osservato che, sebbene *E. histolytica* provoca spesso infezioni lievi o asintomatiche, circa il 10% dei pazienti sviluppa una grave dissenteria, malattie invasive extraintestinali con pericolo di vita. Si stima che muoiono ogni anno 70.000 persone di colite amebica e/o ascesso epatico. Dissenteria e sindrome diarroica rappresentano il 90% dei casi di amebiasi invasiva intestinale.

B) Sensibilità e specificità

Sono stati testati alcuni campioni di feci di pazienti di differenti ospedali Europei. *Entameba Ag card* (Mascia Brunelli) è stato confrontato con altri test immunocromatografici. Sensibilità >99%. Specificità >99%.

C) Reazione crociata

Una valutazione per determinare la reattività crociata di *Entameba Ag card* (Mascia Brunelli) è stata eseguita. Non c'era alcuna reattività crociata con microrganismi gastrointestinali comuni occasionalmente presenti nelle feci: *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, *Giardia lamblia*, *H. pylori*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Shigella*.

X. CONTROLLO QUALITÀ INTERNO

Viene inclusa la procedura di Controllo Qualità interno. Una linea verde compare nella regione controllo C come conferma che il volume del campione è sufficiente e la tecnica procedurale corretta.

XI. LIMITI DEL TEST

- Entameba Ag card* (Mascia Brunelli) indica unicamente la presenza di antigeni di *Entamoeba* nel campione (analisi qualitativa) e deve essere utilizzato per la determinazione di *Entamoeba* in soli campioni di feci. Con questo test non si possono rilevare valori quantitativi o aumento della concentrazione
- Un eccesso di campione può causare risultati errati (banda marrone). Diluire il campione con il tampone e ripetere il test. Alcuni campioni di feci possono diminuire l'intensità della linea di controllo
- La prova deve essere effettuata il più presto possibile dopo l'apertura della busta sigillata
- Se il risultato del test è negativo e i sintomi clinici persistono, si consiglia di eseguire approfondimenti. Un risultato negativo non esclude comunque la possibilità di infezione da *Entamoeba*
- Questo test fornisce una diagnosi presuntiva di infezione causata da *Entamoeba*. Tutti i risultati devono essere interpretati insieme ad altri dati clinici e di laboratorio a disposizione del medico
- Dopo una settimana dall'infezione, il numero di parassiti nelle feci diminuisce, rendendo il campione meno reattivo. I campioni di feci devono essere raccolti entro una settimana dalla comparsa dei sintomi
- In caso di risultato positivo, servono ulteriori test per confermare la presenza di *E. Histolica* e suggerire l'appropriata terapia.

XII. BIBLIOGRAFIA

- REED S., et al. "Cloning of a Virulence Factor of *Entamoeba histolytica*". *Journal of Clinical Investigation*, Volume 91, April 1993, 1532-1540.
- HAQUE R., et al. "Diagnosis of Amebic Liver Abscess and Intestinal Infection with the TechLab *Entamoeba histolytica* II Antigen Detection and Antibody Tests". *Journal of clinical microbiology*, Sept. 2000, p. 3235-3239.
- ESPINOSA-CANTELLANO M., et al. "Pathogenesis of Intestinal Amebiasis: From Molecules to Disease". *Clinical Microbiology Reviews*, Apr. 2000, p. 318-331.

IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Limiti di temperatura	LOT	Codice del lotto (EXXX)	Fabbricante	Mantenere asciutto	Non sterile
i	Consultare le istruzioni per l'uso	Utilizzare entro (anno/mese)	REF	Numero di catalogo	Non riutilizzare	Fragile, maneggiare con cura	Tenere lontano dal calore

CONTENUTO

Entameba Ag
Liq.Extr tubi
Controllo Positivo
Istruzioni per l'uso

Ref. VC1030 (10 test)

10 test
10 x 1.0 mL
1 x 0.5 mL
1 pezzo

Codice Ramo CND W010505

