

# NADAL<sup>®</sup> Entamoeba Test (test cassette)

REF 2090001



<b>DE</b> Gebrauchsanweisung	2	<b>PL</b> Sposób użycia	15
<b>EN</b> Instruction for use	5	Symbols	20
<b>FR</b> Instructions d'utilisation	7	Our Teams	20
<b>ES</b> Instrucciones de uso	10		
<b>IT</b> Istruzioni per l'uso	12		



### 1. Verwendungszweck oder Anwendungsbereich

Der NADAL® Entamoeba Test ist ein schneller chromatographischer Immunoassay für den qualitativen Nachweis von *Entamoeba spp.*-Antigenen in humanen Stuhlproben als Unterstützung bei der Diagnose von Amöbiasis.

### 2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Die Amöbiasis ist eine Infektion des menschlichen Magen-Darm-Traktes durch *Entamoeba histolytica*, ein Protozoenparasit, der in die Darmschleimhaut eindringen und sich zu anderen Organen, hauptsächlich zur Leber verbreiten kann. *Entamoeba dispar*, eine *E. histolytica* morphologisch ähnliche Amöbe, die auch den menschlichen Darm besiedelt, wurde seit Kurzem als eine separate Spezies ohne invasives Potenzial erkannt. Die Anerkennung von *E. dispar* als eine unterschiedliche, jedoch eng verwandte Protozoenspezies hatte tiefgreifende Auswirkungen auf die Epidemiologie der Amöbiasis, da die meisten asymptomatischen Infektionen, die weltweit festgestellt wurden, auf diese nicht invasive Amöbe zurückgeführt werden.

Die invasive Amöbiasis durch *E. histolytica* ist in Entwicklungsländern sehr üblich. In Gebieten mit endemischen Infektionen begünstigen verschiedene Bedingungen wie Unwissenheit, Armut, Überbevölkerung, mangelnde und kontaminierte Wasserversorgung und schlechte sanitäre Bedingungen direkte fäkal-orale Übertragung der Amöben von einer Person zur anderen. Die Amöbiasis ist nach Einschätzungen der Weltgesundheitsorganisation jährlich für ca. 70 Tausend Todesfälle verantwortlich und ist dabei die vierte führende Todesursache durch Protozoeninfektion nach Malaria, der Chagas-Krankheit und Leishmaniose, sowie die dritte Ursache der Morbidität in dieser Gruppe der Organismen nach Malaria und Trichomoniasis.

Patienten mit Dysentery haben durchschnittlich drei bis fünf blutig-schleimige Entleerungen pro Tag mit mäßigen Kolikschmerzen, die der Absonderung vorausgehen, und rektalen Tenesmus. Patienten mit blutiger Diarrhö haben auch wenige Entleerungen, ihr Stuhl besteht aber aus flüssigen Fäkalien mit Blut. Obwohl mässige Kolikschmerzen anwesend sind, gibt es keinen rektalen Tenesmus. Fieber und systematische Manifestationen treten generell nicht auf.

### 3. Testprinzip

Der NADAL® Entamoeba Test ist ein qualitativer Immunoassay im Lateral-Flow-Format für den Nachweis von *Entamoeba spp.*-Antigenen in humanen Stuhlproben. Monoklonale und polyklonale Antikörper gegen *Entamoeba*-Antigene sind im Testlinienbereich der Membran vorbeschichtet. Während der Testdurchführung reagiert die Probe mit Partikeln, die mit Antikörpern gegen *Entamoeba* beschichtet und auf dem Teststreifen vorgetrocknet sind. Das Gemisch wandert durch Kapillarkraft die Membran entlang. Im Falle eines positiven Ergebnisses reagieren spezifische und auf der Membran fixierte Antikörper mit der Konjugatmischung und erzeugen eine rotfarbige Linie. Eine grünfarbige Linie sollte immer im Kontrolllinienbereich erscheinen. Sie dient als interne Reagenzienkontrolle und als Bestätigung, dass ausreichendes Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

### 4. Bestandteile der Testpackung

- 10 NADAL® Entamoeba Testkassetten
- 10 Probensammelröhrchen mit Puffer
- 1 Packungsbeilage

### 5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Probensammelbehälter
- Einweghandschuhe
- Timer

### 6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Den Test wie geliefert im verschlossenen Folienbeutel entweder gekühlt oder bei Raumtemperatur (2-30°C) lagern. Der Test ist bis zu dem auf dem Folienbeutel angegebenen Verfallsdatum stabil. Bis zur Verwendung muss der Test im verschlossenen Folienbeutel bleiben. Nicht einfrieren.

### 7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Verwenden Sie den Test nicht nach dem Verfallsdatum.
- Bis zur Verwendung muss der Test im verschlossenen Folienbeutel bleiben.
- Den Test nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Tragen Sie Schutzkleidung wie Laborkittel, Einweghandschuhe oder Schutzbrille, wenn Proben getestet werden.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben oder Test-Kits umgegangen wird.
- Behandeln Sie alle Proben als potentiell infektiös. Während des gesamten Tests bewährte Vorsichtsmaßnahmen gegen mikrobiologische Gefahren beachten und bei der Probenentsorgung Standardverfahren einhalten.
- Den Test in einem geeigneten Behälter für biologisch gefährlichen Abfall entsorgen.
- Der Test muss innerhalb von 2 Stunden nach Öffnung des verschlossenen Folienbeutels durchgeführt werden.

### 8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Sammeln Sie eine ausreichende Stuhlmenge (1-2 g oder 1-2 mL einer flüssigen Probe). Stuhlproben sollten in sauberen und trockenen Behältern (ohne Konservierungsmittel oder Transportmedium) gesammelt werden. Vor der Testdurchführung können die Proben im Kühlschrank (bei 2-4°C) bis 1-2 Tage gelagert werden. Für eine längere Lagerung sollten die Proben eingefroren bei -20°C gelagert werden. In diesem Fall sollten die Proben vor der Testdurchführung vollständig aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht werden.

### 9. Testdurchführung

#### Verarbeitung von gewonnenen Stuhlproben:

Verwenden Sie ein separates Probensammelröhrchen für jede Probe. Öffnen Sie die Verschlusskappe des Probensammelröhrchens und stechen Sie den Probennehmer (Spiralstab) drei Mal an drei verschiedenen Stellen in die Stuhlprobe, um ca. 125 mg Probe zu sammeln. Verschließen Sie das Probensammelröhrchen

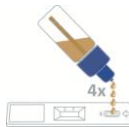
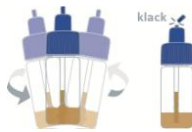
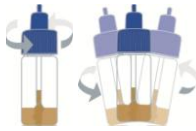


mit Puffer und Stuhlprobe. Schütteln Sie das Probensammelröhrchen, um eine gute Proben dispersion zu gewährleisten. Bei flüssigen Stuhlproben saugen Sie mit einer Pipette die Stuhlprobe auf und geben Sie 125 µL Probe in das Probensammelröhrchen mit Puffer.

#### Testdurchführung:

Vor der Testdurchführung bringen Sie Tests, Stuhlproben und Puffer auf Raumtemperatur (15-30°C). Öffnen Sie den Folienbeutel erst, wenn Sie bereit sind den Test durchzuführen.

1. Entnehmen Sie die NADAL® Entamoeba Testkassette dem Folienbeutel und verwenden Sie sie so schnell wie möglich.
2. Schütteln Sie das Probensammelröhrchen, um eine gute Proben dispersion zu gewährleisten. Brechen Sie den Verschluss des Probensammelröhrchens ab.
3. Verwenden Sie eine separate Testkassette für jede Probe. Geben Sie 4 Tropfen der Probe in die Probenvertiefung (S) der Testkassette. Starten Sie den Timer.
4. Lesen Sie das Ergebnis 10 Minuten nach der Zugabe der Probe in die Probenvertiefung (S) ab.



#### 10. Testauswertung

##### Positiv:

Es erscheint eine grüne Linie im Kontrolllinienbereich (C) und eine rote Linie im Testlinienbereich (T).



##### Hinweis:

Die Intensität der rotfarbigen Linie im Testlinienbereich (T) kann abhängig von der in der Probe vorhandenen Antigenkonzentration variieren. Es kann jedoch weder ein quantitativer Wert noch der Antigenanstieg mit diesem qualitativen Test bestimmt werden.

##### Negativ:

Es erscheint eine grüne Linie im Kontrolllinienbereich (C). Keine Linie erscheint im Testlinienbereich (T).



##### Ungültig

Das Nichtvorhandensein der grünen Kontrolllinie (C) unbeachtet der Anwesenheit oder Abwesenheit der roten Testlinie weist auf ein Fehlschlagen des Testverfahrens hin. Die Probe sollte erneut getestet werden.



**Hinweis:** Unzureichendes Probenvolumen, inkorrekte Verfahrenstechniken oder Reagenzienverfall sind die wahrscheinlichsten Gründe für das Ausbleiben der Kontrolllinie.

Verfahrensablauf überprüfen und den Test mit einer neuen Testkassette durchführen. Falls das Problem weiterbesteht, das Test-Kit ab sofort nicht weiterverwenden und sich mit Ihrem Distributor in Verbindung setzen.

#### 11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle.

Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende grüne Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

#### 12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Entamoeba Test zeigt nur die Anwesenheit von Parasiten in der Probe an und sollte ausschließlich für den qualitativen Nachweis von *Entamoeba*-Antigenen in Stuhlproben verwendet werden. Es kann jedoch weder ein quantitativer Wert noch der Antigenanstieg mit diesem qualitativen Test bestimmt werden.
- Ein Probenüberschuß kann zu falschen Ergebnissen führen (Es erscheinen braune Linien). Verdünnen Sie die Probe mit Puffer und wiederholen Sie den Test.
- Wenn das Testergebnis negativ ist und klinische Symptome weiter bestehen, empfiehlt es sich zusätzlich Testungen mit anderen klinischen Methoden durchzuführen. Ein negatives Ergebnis schließt zu keiner Zeit eine mögliche Amöbiasis-Erkrankung aus.
- Nach einer Woche der Infektion geht die Anzahl der Parasiten in Fäkalien zurück und dadurch wird die Probe weniger reaktiv. Stuhlproben sollten innerhalb einer Woche nach dem Auftritt der Symptome gesammelt werden.
- Dieser Test ermöglicht eine Verdachtsdiagnose einer *Entamoeba*-Infektion. Alle Ergebnisse müssen im Zusammenhang mit anderen klinischen Informationen und Laborbefunden, die dem Arzt zur Verfügung stehen, interpretiert werden.

#### 13. Erwartete Werte

*Entamoeba histolytica* infiziert weltweit über 500 Millionen Menschen. Fast seit ihrer Entdeckung wurde beobachtet, dass, obwohl *E. histolytica* am häufigsten milde oder asymptomatische Infektionen verursacht, bei 10% der Patienten eine schwere Dysenterie und eine lebensbedrohliche invasive und extraintestinale Erkrankung auftreten.

Es wird eingeschätzt, dass jährlich 100.000 Menschen an Amöbenkolitis und Amöbenleberabszess sterben.

Dysenterische und diarrhöische Syndrome sind für 90% der Fälle einer invasiven intestinalen Amöbiasis verantwortlich.

#### 14. Leistungsmerkmale des Tests

##### Sensitivität und Spezifität

Stuhlproben von Patienten aus verschiedenen Krankenhäusern wurden mit dem NADAL® Entamoeba Test im Vergleich zu einem anderen immunochromatographischen Test untersucht. Die Ergebnisse zeigen, dass der NADAL® Entamoeba Test eine Sensitivität von >99% und eine Spezifität von >99% hat.

##### Kreuzreaktivität

Eine Evaluierung wurde durchgeführt, um die Kreuzreaktivität des NADAL® Entamoeba Tests festzustellen. Es wurde keine

Kreuzreaktivität mit üblichen Magen-Darm-Krankheits-  
erregern, anderen Organismen und Substanzen, die ge-  
legentlich in Stuhproben vorhanden sind, bei dem NADAL®  
Entamoeba Test beobachtet: *Escherichia coli*, *Campylobacter*,  
*Clostridium difficile*, *Giardia lamblia*, *H. pylori*, *Listeria*  
*monocytogenes*, *Salmonella*, *Shigella*.

#### 15. Referenzen

1. REED S., et al. "Cloning of a Virulence Factor of *Entamoeba histolytica*". *Journal of Clinical Investigation*, Volume 91, April 1993, 1532-1540.
2. 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.
3. ESPINOSA-CANTELLANO M., et al. "Pathogenesis of Intestinal Amebiasis: From Molecules to Disease". *Clinical Microbiology Reviews*, Apr. 2000, p. 318–331.

Rev. 0, 2014-08-14 OM

### 1. Intended Use

The NADAL® Entamoeba test is a rapid chromatographic immunoassay for the qualitative detection of *Entamoeba spp.* antigens in human faecal specimens to aid in the diagnosis of amoebiasis.

### 2. Introduction and Clinical Significances

Amoebiasis is the infection of human gastrointestinal tract by *Entamoeba histolytica*, a protozoan parasite which is capable of invading intestinal mucosa and may spread to other organs, mainly to liver. *Entamoeba dispar*, an amoeba morphologically similar to *E. histolytica* that also colonises in human gut, has been recently recognised as a separate species with no invasive potential. The acceptance of *E. dispar* as a distinct but closely related protozoan species has had profound implications for epidemiology of amoebiasis, since most asymptomatic infections found worldwide are now attributed to this non-invasive amoeba.

Invasive amoebiasis due to *E. histolytica* is more common in developing countries. In areas of endemic infection, a variety of conditions including ignorance, poverty, overcrowding, inadequate and contaminated water supplies and poor sanitation favour direct faecal-oral transmission of amoebas from one person to another. Being responsible for approximately 70 thousand deaths annually, amoebiasis is the fourth leading cause of death due to a protozoan infection after malaria, Chagas disease and leishmaniasis, and the third cause of morbidity in this organism group after malaria and trichomoniasis, according to the recent World Health Organisation estimate.

Patients with dysentery have an average of three to five mucosanguineous evacuations per day, with moderate colic pain preceding discharge, and rectal tenesmus. In patients with bloody diarrhoea evacuations are also few but stools are composed of liquid faecal material stained with blood. While there is moderate colic pain, there is no rectal tenesmus. Fever and systemic manifestations are generally absent.

### 3. Principle of the Test

The NADAL® Entamoeba test is a qualitative lateral flow immunoassay for the detection of *Entamoeba spp.* antigen in human faecal samples. Monoclonal and polyclonal antibodies against *Entamoeba* antigens are pre-coated in the test line region of the membrane. During testing, the sample reacts with particles coated with antibodies against *Entamoeba* which were pre-dried on the test strip. The mixture migrates along the membrane by capillary action. In the case of a positive result specific antibodies present on the membrane react with mixture conjugate and generate a red coloured line. A green coloured line should always appear in the control line region. It serves as verification that sufficient volume of sample has been added, that membrane wicking has occurred and as an internal control for reagents.

### 4. Reagents and Materials Supplied

- 10 NADAL® Entamoeba test cassettes
- 10 specimen collection tubes containing buffer
- 1 package insert

### 5. Additional Required Materials

- Specimen collection container

- Disposable gloves
- Timer

### 6. Storage & Stability

Store the test as packaged in the sealed foil pouch either refrigerated or at room temperature (2-30°C). The test is stable through the expiration date printed on the sealed foil pouch. The test must remain in the sealed foil pouch until use. Do not freeze.

### 7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- The test should remain in the sealed foil pouch until use.
- Do not use the test if the foil pouch is damaged.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being tested.
- Do not eat, drink or smoke in the area where the specimens or test kits are handled.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions against microbiological hazards throughout testing and follow standard procedures for proper disposal of specimens.
- The test should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed foil pouch.

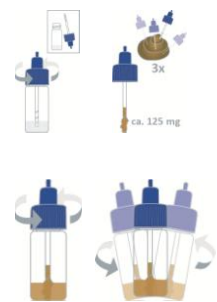
### 8. Specimen Collection and Preparation

Collect sufficient quantity of feces (1-2 g or 1-2 mL for liquid sample). Stool samples should be collected in clean and dry containers (without preservatives or transport media). Samples can be stored in the refrigerator (2-4°C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage samples must be kept frozen at -20°C. In this case, samples should be completely thawed and brought to room temperature before testing.

### 9. Procedure of the Test

#### To process the collected stool samples:

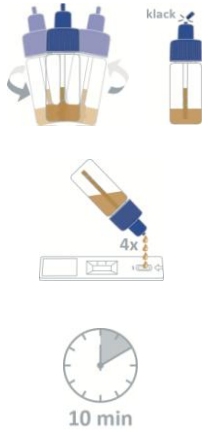
Use a separate specimen collection tube for each sample. Unscrew the tube cap and introduce the applicator stick three times into three different sites of faecal specimen to collect 125 mg of sample. Close the tube containing buffer and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion. For liquid stool samples, aspirate faecal specimen with a dropper and add 125 µL of sample into the specimen collection tube containing buffer.



#### Test Procedure:

Bring tests, stool samples and buffer to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open foil pouches until ready to perform the assay.

1. Remove the NADAL® Entamoeba test cassette from the sealed foil pouch and use it as soon as possible.
2. Shake the specimen collection tube to assure good sample dispersion. Break off the tip of the tube cap.
3. Use a separate test cassette for each sample. Dispense exactly 4 drops of sample into the specimen well (S) of the test cassette. Start the timer.
4. Read the result at 10 minutes after dispensing the sample into the specimen well (S).



### 10. Interpretation of the Results

#### Positive:

One green line develops in the control line region (C) and one red line develops in the test line region (T).



#### Note:

The intensity of the red line in the test line region (T) may vary depending on the concentration of antigens present in specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

#### Negative:

One green line develops in the control line region (C). No line develops in the test line region (T).



#### Invalid:

The absence of the green control line (C) regardless of the appearance or absence of the test line (T) indicates a failure in the test procedure. The sample should be retested.



**Note:** Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your distributor.

### 11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette:

A green line appearing in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

### 12. Limitations

- The NADAL® Entamoeba test only indicates the presence of parasites in specimen and should be used for the qualitative detection of *Entamoeba* antigens in faecal specimens only.

Neither the quantitative value nor the rate of increase in antigen concentration can be determined by this test.

- An excess of sample can cause wrong results (brown lines appear). Dilute the sample with buffer and repeat the test.
- If the test result is negative and clinical symptoms persist, additional testing using other clinical methods is recommended. A negative result does not at any time preclude the possibility of amoebiasis.
- After one week of infection, the number of parasites in faeces is decreasing, making the sample less reactive. Stool samples should be collected within one week of the onset of symptoms.
- This test provides a presumptive diagnosis of infection caused by *Entamoeba*. All results must be interpreted in conjunction with other clinical information and laboratory findings available to the physician.

### 13. Expected Values

*Entamoeba histolytica* infects more than 500 million people worldwide. It has been observed almost from the time of its discovery that although *E. histolytica* most often causes mild or asymptomatic infections, 10% of patients develop severe dysentery and life-threatening invasive and extraintestinal disease.

100,000 people are estimated to die each year from amoebic colitis and amoebic liver abscess.

Dysenteric and diarrhetic syndromes account for 90% of cases of invasive intestinal amoebiasis.

### 14. Performance Characteristics

#### Sensitivity, Specificity

Some stool samples from patients of different hospitals were studied using the NADAL® Entamoeba test in comparison with another immunochromatographic test. The results show that the NADAL® Entamoeba test has sensitivity of >99% and specificity of >99%.

#### Cross-Reactivity

An evaluation was performed to determine cross-reactivity of NADAL® Entamoeba test. No cross-reactivity with common intestinal pathogens, other organisms and substances occasionally present in feces were observed with NADAL® Entamoeba test: *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, *Giardia lamblia*, *H. pylori*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Shigella*.

### 15. References

1. REED S., et al. "Cloning of a Virulence Factor of *Entamoeba histolytica*". *Journal of Clinical Investigation*, Volume 91, April 1993, 1532-1540.
2. 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.
3. ESPINOSA-CANTELLANO M., et al. "Pathogenesis of Intestinal Amebiasis: From Molecules to Disease". *Clinical Microbiology Reviews*, Apr. 2000, p. 318-331.

Rev. 0, 2014-08-14 OM/JB

### 1. Domaine d'application

Le test NADAL® Entamoeba est un immunodosage chromatographique pour la détection qualitative des antigènes *Entamoeba spp.* dans les selles humaines. Il est utilisé dans le cadre du diagnostic d'une infection à l'amoébose.

### 2. Introduction et signification clinique

L'amoébose est une infection du système gastro-intestinal causée par *Entamoeba histolytica*. Ce parasite protozoaire s'infiltré dans la muqueuse intestinale causant la progression de l'infection à d'autres organes et notamment au foie. *Entamoeba dispar* est, d'un point de vue morphologique, très semblable à l'amibe *E. histolytica*. Elle colonise de la même manière l'intestin de l'homme et a été récemment reconnue espèce séparée sans potentiel invasif. L'épidémiologie de l'amoébose a vécu une grande avancée grâce à cette découverte sur *E. dispar*, cette nouvelle espèce protozoaire et pourtant si proche de *Entamoeba histolytica*. En effet, la plupart des infections asymptomatiques déclarées à une échelle planétaire sont à attribuer à cette amibe non-invasive.

Les amoéboses invasives causées par *E. histolytica* sont très fréquentes dans les pays en voie de développement. Le manque d'informations, la pauvreté, la surpopulation, les pénuries et contaminations des eaux et les conditions sanitaires déplorable sont autant de facteurs propices à la transmission directe de l'amoébose. L'amoébose est, selon les estimations de l'Organisation Mondiale de la Santé, responsable d'environ 70.000 décès par an et représente ainsi la 4ème cause de mortalité due à une infection protozoaire après la malaria, la maladie de chagas et la leishmaniose. Elle est également la troisième cause de morbidité dans le groupe des organismes après la malaria et la trichomoniasis.

Les patients atteints de la dysenterie souffrent 3 à 5 fois par jour de selles aqueuses et mêlées de sang et accompagnées de crampes abdominales. Elles précèdent une décharge et un ténisme anal. Les patients atteints de diarrhées sanglantes vont moins souvent à la selle. Les selles contiennent des matières fécales liquides et mêlées de sang. Bien que ces patients souffrent de crampes abdominales aiguës, elles ne sont pas accompagnées de ténismes anaux. Aucune manifestation systémique ou fièvre n'est à observer.

### 3. Principe du test

Le test NADAL® Entamoeba est un immunodosage à flux latéral pour la détection qualitative des antigènes *Entamoeba spp.* dans les selles humaines. Des anticorps mono- et polyclonaux anti-antigènes-Entamoeba sont immobilisés à hauteur de la ligne de test sur la membrane. Pendant l'exécution du test, le prélèvement réagit aux particules rouges contenant des anticorps anti-Entamoeba préalablement déshydratés sur la bandelette. Le mélange migre le long la membrane par capillarité. Dans le cas d'un résultat positif, les anticorps spécifiques préalablement fixés sur la membrane réagissent à la présence du conjugué. Une ou deux lignes rouges apparaissent. Une ligne verte apparaît toujours dans la zone de contrôle. Elle confirme que le volume d'échantillon était suffisant et que la membrane a été complètement imbibée du fluide.

### 4. Matériel fourni

- 10 cassettes NADAL® Entamoeba
- 10 tubes collecteurs contenant une solution tampon
- 1 notice d'utilisation

### 5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Récipient collectif
- Gants à usage unique
- Chronomètre

### 6. Péréemption et conservation des réactifs

Conserver le test dans son emballage d'origine en milieu réfrigéré ou à température ambiante (2-30°C). Les tests restent stables jusqu'à la date de péréemption indiquée sur l'emballage. Le test doit être conservé dans son emballage d'origine jusqu'à son utilisation. Ne pas congeler.

### 7. Précautions et mesures de sécurité

- Test uniquement réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Ne pas utiliser le test au-delà de la date de péréemption.
- Le test doit être conservé dans son emballage d'origine jusqu'à son utilisation.
- Ne pas utiliser le test si l'emballage est endommagé.
- Utiliser des vêtements de protection tels que qu'une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et des lunettes de protection.
- Ne pas manger, boire ou fumer à proximité de la zone de manipulation des tests.
- Les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux. Appliquer les mesures de précaution relatives à la manipulation de matières microbiologiques.
- Tous les échantillons et équipements utilisés lors la réalisation du test doivent être éliminés selon les directives locales en vigueur.
- Le test doit être réalisé dans les 2 heures suivant l'ouverture de son emballage.

### 8. Recueil et conservation des échantillons

Recueillir une quantité suffisante de selles (1-2 g ou 1-2 mL dans le cas d'un prélèvement liquide). Recueillir les prélèvements de selles dans un récipient sec et propre (sans agents conservateur ou tube de transport). Les tests peuvent être conservés en milieu réfrigéré (de 2-4°C) 1 à 2 jours avant l'exécution du test. Dans le cas d'un temps de conservation plus long, les prélèvements doivent être congelés à -20°C. Décongeler les prélèvements et amener les à température ambiante avant de réaliser le test.

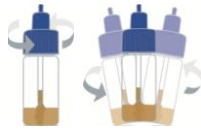
### 9. Exécution du test

#### Exploitation des selles recueillies:

Pour chaque prélèvement, utiliser un tube collecteur différent. Dévisser le capuchon protecteur du tube collecteur et prendre le préleveur d'échantillons. Insérer le préleveur dans au moins 3 endroits différents des selles de façon à recueillir au moins 125 mg. Fermer le



tube collecteur avec la solution tampon et le prélèvement. Secouer le tube collecteur afin d'assurer une bonne dispersion du prélèvement. Dans le cas de selles liquides, aspirer les selles avec une pipette et insérer 125 µL de prélèvements dans le tube collecteur contenant la solution tampon.



persiste, ne pas réutiliser le kit et se mettre en contact avec le distributeur.

### 11. Contrôle qualité

La cassette contient une procédure de contrôle interne.

La ligne verte apparaissant dans la zone de contrôle (C) est considérée comme une procédure de contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant, que la manipulation a été correctement effectuée et que la membrane a été suffisamment imbibée.

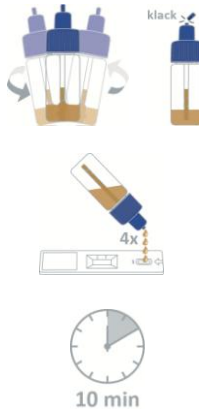
### 12. Limites du test

- Le test NADAL® Entamoeba se limite au dépistage qualitatif des antigènes *Entamoeba* et de parasites dans les prélèvements de selles humaines. Ce test qualitatif ne donne aucune information sur la quantité ou sur la progression des antigènes.
- Un surplus de prélèvements peut être à l'origine de résultats faussés (une ligne marron apparaît). Diluer le prélèvement avec une solution tampon et réitérer le test.
- Si le test se révèle négatif et que des symptômes persistent, il est recommandé d'effectuer des examens complémentaires. Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection de type Amœbose.
- Après une semaine d'infection, le nombre de parasites présents dans les selles diminue. Ceci rend le prélèvement moins réactif. Il est recommandé de recueillir les selles dans la semaine suivant l'apparition des premiers symptômes.
- Ce test permet d'effectuer un diagnostic rapide lors d'un soupçon d'infection à *Entamoeba*. Tous les résultats doivent être interprétés par un médecin à l'aide des informations cliniques et des résultats d'analyse de laboratoire.

### Exécution du test:

Avant l'exécution du test, amener le kit et les échantillons à température ambiante (15-30°C). N'ouvrir l'emballage que quand vous êtes prêts à réaliser le test.

1. Sortir la cassette NADAL® Entamoeba de son emballage. Ne pas attendre pour l'utiliser.
2. Secouer le tube collecteur afin d'assurer une bonne dispersion du prélèvement. Briser l'extrémité du tube collecteur après avoir retiré le capuchon.
3. Pour chaque échantillon, utiliser une cassette différente. Déposer 4 gouttes de la solution dans les puits de dépôt de la cassette (S). Démarrer le chronomètre.
4. Attendre 10 minutes pour lire les résultats du test.



### 10. Interprétation des résultats

#### Positif:

Une ligne verte apparaît dans la zone de contrôle (C) et une ligne rouge apparaît dans la zone de test (T).



#### Remarque:

L'intensité de la couleur rouge apparaissant à hauteur de la ligne de test (T) peut varier selon la concentration d'antigènes présents dans le prélèvement. Ce test qualitatif ne donne aucune information sur la quantité ou sur la progression des antigènes.

#### Négatif:

Une ligne verte apparaît dans la zone de contrôle (C). Aucune ligne n'apparaît à hauteur de la ligne test (T).



#### Non-valide:

Si aucune ligne verte n'apparaît dans la zone de contrôle (C), le test est considéré comme non-valide et ce, même si la ligne rouge apparaît dans la zone de test. L'analyse doit être recommencée.



**Remarque:** Un volume d'échantillon insuffisant, une mauvaise manipulation ou un réactif périmé sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle. Relire le déroulement de la manipulation et refaire le test. Dans le cas où le problème

### 13. Valeur attendue

*Entamoeba Hystolitica* infecte plus de 500 millions de personnes dans le monde entier. Bien que *E. histolytica* soit à l'origine d'infections légères et asymptomatiques, 10% des patients sont touchés par une dysenterie aiguë ou par une infection invasive extra-intestinale engageant le pronostic vital.

On estime à 100 000 par an le nombre de personnes emportées par une amibique colique ou par un abcès hépatique amibien.

L'amœbose intestinale invasive est dans 90% des cas responsable des syndromes diarrhéiques et dysentériques.

### 14. Performance du test

#### Sensibilité et spécificité

Les prélèvements de selles de patients issus de plusieurs hôpitaux ont été analysés avec le test NADAL® Entamoeba puis comparés aux analyses d'autres tests immunochromatographiques. Les résultats indiquent une sensibilité >99% et une spécificité >99% avec le test NADAL® Entamoeba.

#### Réactions croisées

Une évaluation a été menée afin de déceler les réactions croisées du test NADAL® Entamoeba. Le test NADAL® Entamoeba ne présente aucune réaction croisée avec les agents pathogènes des maladies gastro-intestinales, les organismes ou substances habituellement présents dans les



prélèvements de selles: *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, *Giardia lamblia*, *H.pylori*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Shigella*.

#### 15. Bibliographie

1. REED S., et al. "Cloning of a Virulence Factor of *Entamoeba histolytica*". *Journal of Clinical Investigation*, Volume 91, April 1993, 1532-1540.
2. 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.
3. ESPINOSA-CANTELLANO M., et al. "Pathogenesis of Intestinal Amebiasis: From Molecules to Disease". *Clinical Microbiology Reviews*, Apr. 2000, p. 318-331.

Rev. 0, 2014-08-14 PF

### 1. Uso previsto

El test NADAL® Entamoeba es un ensayo rápido inmunocromatográfico para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba spp.* en muestras fecales humanas y sirve de ayuda al diagnóstico de amebiasis.

### 2. Introducción y significado clínico

La amebiasis es la infección del tracto gastro intestinal humano causada por la *Entamoeba histolytica*, un protozoo parásito capaz de invadir la mucosa intestinal y de propagarse a otros órganos, principalmente al hígado. Recientemente se ha reconocido la *Entamoeba dispar*, una ameba morfológicamente similar a la *E. histolytica* que también coloniza el intestino humano, como una especie separada con potencial no invasivo. Esta aceptación de la *E. dispar* como una especie de protozoo diferente, aunque estrechamente relacionada, ha tenido profundas implicaciones en la epidemiología de la amebiasis, puesto que las infecciones más asintomáticas encontradas a nivel mundial se atribuyen ahora a esta ameba no invasiva.

La amebiasis invasiva producida por la *E. histolytica* es más habitual en los países en vías de desarrollo. En áreas de infección endémica, la variedad de condiciones incluye ignorancia, pobreza, superpoblación, agua contaminada o un suministro inadecuado y malas condiciones sanitarias que favorecen la transmisión fecal-oral directa de amebas de una persona a otra. La amebiasis es la responsable de alrededor de setenta mil muertes al año, siendo la cuarta causa de muerte por infección de protozoo, después de la malaria, la enfermedad de Chagas y la leishmaniasis, y la tercera causa de morbilidad en este grupo de organismos tras la malaria y la tricomonirosis, según una reciente estimación de la Organización Mundial de la Salud.

Los pacientes con disentería tienen una media de tres a cinco evacuaciones mucosanguíneas al día, con dolores cólicos moderados previos y tenesmo rectal. En pacientes con diarreas sangrantes las evacuaciones son también pocas, pero las heces están formadas por material fecal líquido manchado con sangre. Aunque hay dolor cólico moderado, no hay tenesmo rectal. Generalmente no se presenta fiebre ni manifestaciones sistémicas.

### 3. Principio del test

El test NADAL® Entamoeba es un inmunoensayo cualitativo de flujo lateral para la detección de antígenos de *Entamoeba spp.* Los anticuerpos monoclonales y policlonales contra los antígenos de *Entamoeba* recubren la membrana en el área de la línea de test. Durante el proceso, la muestra reacciona con estos anticuerpos prefijados en la membrana. La mezcla se mueve a lo largo de la membrana por acción capilar. En caso de un resultado positivo, los anticuerpos específicos presentes en la membrana reaccionan con la mezcla del conjugado generando una línea coloreada roja. Debe aparecer siempre una línea de color verde en el área de la línea de control, ya que sirve para verificar que el volumen de muestra añadido ha sido suficiente, que la membrana ha reaccionado adecuadamente y además funciona como control interno de los reactivos.

### 4. Reactivos y materiales provistos

- 10 casetes de test NADAL® Entamoeba
- 10 tubos con búfer para la recolección de la muestra
- 1 manual de instrucciones

### 5. Otros materiales necesarios

- Recipiente para la recolección de la muestra
- Guantes desechables
- Temporizador

### 6. Almacenamiento y conservación

Almacene el kit, tal como está envasado en su bolsa sellada, refrigerado o a temperatura ambiente (de 2 a 30°C). El test se mantiene estable hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. Mantenga el dispositivo en la bolsa sellada hasta su uso. No lo congele.

### 7. Advertencias y precauciones

- Solo para uso de diagnóstico *in-vitro*.
- No utilice los test después de la fecha de caducidad indicada.
- Mantenga el kit en su envase sellado hasta su uso.
- No utilice el dispositivo si el envase está dañado.
- Use guantes desechables mientras manipula las muestras y ejetca las pruebas. Lávese bien las manos al finalizar.
- No coma, beba ni fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Manipule las muestras como material potencialmente infeccioso. Tenga en cuenta las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante la prueba y siga los procedimientos estándar para la eliminación de material.
- Deseche el test en un contenedor de residuos de riesgo biológico después de realizar la prueba.
- Realice la prueba dentro de las 2 horas siguientes a abrir el envase.

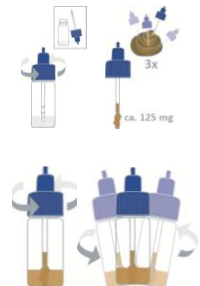
### 8. Toma de muestras y preparación

Recolecte suficiente cantidad de heces (1-2 g o 1-2 ml en caso de muestras líquidas), utilizando un recipiente limpio y seco para su recolección (sin conservantes ni medios de transporte). Las muestras pueden refrigerarse (de 2 a 4°C) durante un máximo de dos días antes de su realización. En caso de almacenamientos prolongados, congele las muestras a -20°C. En este caso, descongele completamente las muestras y llévelas a temperatura ambiente antes de realizar la prueba.

### 9. Procedimiento del test

#### Para procesar las muestras de heces:

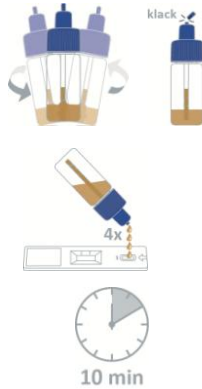
Utilice un vial diferente de diluyente para cada muestra. Desenrosque la parte de arriba del vial e introduzca tres veces la punta en las heces para tomar una cantidad suficiente de muestra (aprox. 125 mg). Cierre el vial con el tampón y la muestra. Agítelo para asegurar una buena dispersión. Para muestras líquidas, utilice una pipeta y añada 125 µl de muestra en el vial con diluyente.



### Procedimiento de test:

Lleve los dispositivos, las muestras y el diluyente a temperatura ambiente (de 15 a 30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase hasta que todo esté preparado para realizar la prueba.

1. Retire el casete de test de su envase y utilícelo lo más pronto posible.
2. Agite el vial de recogida para asegurar una buena mezcla de la muestra. Rompa la parte de arriba del vial.
3. Utilice un casete de test diferente para cada muestra. Dispense 4 gotas exactamente en el pocillo de muestra (S) del dispositivo. Ponga en marcha el temporizador.
4. Lea el resultado a los 10 minutos de dispensar la muestra.



### 10. Interpretación de resultados

#### Positivo:

Aparece una línea verde en el área de la línea de control (C) y una línea roja en el área de la línea de test (T).



#### Nota:

La intensidad de la línea roja en el área de test (T) puede variar en función de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba cualitativa no puede determinar ni la cantidad ni el incremento de antígenos presentes en la muestra.

#### Negativo:

Aparece una línea verde en la región de control (C). No aparece ninguna línea en el área de la línea de test (T).



#### No válido:

Si no aparece la línea verde de control (C), aunque surja la línea roja (T), la prueba no se considera válida. Esto indica un fallo en el proceso. Se debe repetir la prueba.



#### Nota:

Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente o una técnica de procedimiento incorrecta. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.

### 11. Control de calidad

El dispositivo contiene un control interno del procedimiento: la línea verde que aparece en la zona de control (C). Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido suficiente y que el procedimiento ha sido el adecuado.

### 12. Limitaciones

- El test NADAL® Entamoeba indica la presencia de parásitos en la muestra y solo se debe utilizar para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba* en muestras fecales. No detecta ni la cantidad ni el aumento de concentración de antígenos.
- Un exceso de muestra puede dar resultados erróneos (aparición de líneas marrones). Si esto sucede, mezcle la muestra con el diluyente y repita el test.
- Si el test muestra un resultado negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda utilizar otra prueba u otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de amebiasis.
- Después de una semana de infección, la presencia de parásitos en las heces disminuye siendo la muestra menos reactiva. Las muestras de heces se deben recolectar dentro de la semana siguiente a la aparición de los síntomas.
- Esta prueba proporciona un presunto diagnóstico de infección causada por *Entamoeba*. Todos los resultados deben considerarse conjuntamente con la información clínica disponible por el médico.

### 13. Valores esperados

La *Entamoeba histolytica* infecta más de 500 millones de personas en todo el mundo. Prácticamente desde el momento de su descubrimiento se ha observado que, aunque la *E. histolytica* más frecuente causa infecciones leves o asintomáticas, el 10% de los pacientes desarrolla disentería severa y enfermedades extraintestinales que amenazan la vida de la persona.

Se estima que unas 100.000 personas mueren cada año a causa de colitis amebiana y absceso hepático amebiano.

Los síndromes disentéricos y diarreicos representan el 90% de los casos de amebiasis intestinal invasiva.

### 14. Características de rendimiento

#### Sensibilidad y especificidad

Se estudiaron muestras fecales de pacientes de diferentes hospitales utilizando este test en comparación con otros test inmunocromatográficos. Los resultados mostraron que el test NADAL® Entamoeba tiene una sensibilidad de >99% e, igualmente, una especificidad de >99%.

#### Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar las reacciones cruzadas del test NADAL® Entamoeba. No se han observado reacciones cruzadas de este test con patógenos intestinales comunes, u otros organismos y sustancias ocasionalmente presentes en las heces, como *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, *Giardia lamblia*, *H. pylori*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* y/o *Shigella*.

### 15. Referencias

1. REED S, et al. "Cloning of a Virulence Factor of *Entamoeba histolytica*". *Journal of Clinical Investigation*, Volume 91, April 1993, 1532-1540.
2. 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.
3. ESPINOSA-CANTELLANO M., et al. "Pathogenesis of Intestinal Amebiasis: From Molecules to Disease". *Clinical Microbiology Reviews*, Apr. 2000, p. 318-331.

Rev. 0, 2014-08-14 MP

### 1. Scopo del test

Il test NADAL® Entamoeba è un immunodosaggio cromatografico rapido per l'individuazione qualitativa degli antigeni dell'*Entamoeba spp.* in campioni di feci umane come coadiuvante nella diagnosi dell'amebiasi.

### 2. Introduzione e Significato Clinico

L'amebiasi è un'infezione del tratto gastrointestinale causata da *Entamoeba histolytica*, un parassita protozoico che invade principalmente la mucosa intestinale ma che potrebbe diffondersi anche ad altri organi, principalmente il fegato. L'*Entamoeba dispar* è un'ameba morfologicamente simile all'*E. histolytica* anch'essa in grado di colonizzare l'intestino umano. La scoperta ed accettazione dell'*E. dispar* come specie distinta ma strettamente correlata alle altre specie protozoiche ha avuto forti implicazioni per l'epidemiologia dell'amebiasi in quanto la maggior parte delle infezioni asintomatiche riscontrate nel mondo intero sono ora attribuibili a questa ameba non invasiva.

L'amebiasi invasiva causata dall'*E. histolytica* è maggiormente comune nei paesi sviluppati. Nelle aree colpite da infezioni endemiche sono diversi i fattori quali ignoranza, povertà, sovraffollamento, forniture idriche inadeguate ed insufficienti e condizioni sanitarie carenti, che favoriscono la trasmissione diretta dell'ameba per via oro-fecale da un soggetto all'altro. Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità l'amebiasi, responsabile di circa settantamila decessi all'anno, è la quarta causa principale di morte dovuta ad infezioni protozoiche dopo malaria, Chagas e leishmaniosi, e la terza causa di morbidità all'interno di questo gruppo di organismi dopo malaria e tricomoniasi.

I pazienti affetti da dissenteria sono soggetti ad una media di circa tre/cinque evacuazioni mucosanguinee al giorno, con episodi di coliche moderatamente dolorose precedenti all'evacuazione e tenesmo rettale. Gli episodi di evacuazione in pazienti affetti da diarrea sanguinante sono pochi ma i campioni sono composti da materiale fecale liquido con tracce di sangue. Mentre possono manifestarsi episodi di coliche moderatamente dolorose, sono assenti episodi di tenesmo rettale. Febbre e sintomi sistemici sono generalmente assenti.

### 3. Principio del Test

Il test NADAL® Entamoeba è un immunodosaggio qualitativo a flusso laterale per la rilevazione degli antigeni dell'*Entamoeba spp.* in campioni di feci umane. La membrana nella regione della linea del test è prerivestita con gli anticorpi monoclonali e policlonali contro gli antigeni dell'*Entamoeba*. Durante l'esecuzione del test, il campione reagisce con le particelle rivestite di anticorpi anti *Entamoeba* pre-essiccate sulla striscia del test. Il composto migra lungo la membrana per azione capillare. In caso di risultato positivo, gli anticorpi specifici presenti sulla membrana reagiscono con il coniugato generando una linea di colore rosso. Una linea di colore verde dovrebbe sempre comparire nella regione della linea di controllo. Tale linea funge da controllo interno dei reagenti a conferma del fatto che è stato aggiunto il volume sufficiente di campione e che la migrazione sulla membrana è avvenuta correttamente.

### 4. Reagenti e Materiali Forniti

- 10 test a cassetta NADAL® Entamoeba
- 10 tubi di raccolta del campione con soluzione
- 1 istruzioni per l'uso

### 5. Ulteriori materiali richiesti

- Contenitore di raccolta del campione
- Guanti monouso
- Timer

### 6. Conservazione e Stabilità

Conservare il test nella sua confezione di vendita al fresco o a temperatura ambiente (2-30°C). I test a cassetta rimangono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. I test vanno conservati nella loro confezione fino all'utilizzo. Non congelare.

### 7. Avvertenze e Precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*
- Non utilizzare oltre la data di scadenza.
- I test vanno conservati nella loro confezione fino all'utilizzo.
- Non utilizzare il test se la confezione dovesse risultare danneggiata.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le dovute precauzioni contro rischi microbiologici durante l'esecuzione del test e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Smaltire il test in un appropriato contenitore per la raccolta di materiali inquinanti.
- Eseguire il test entro due ore dall'apertura della confezione.

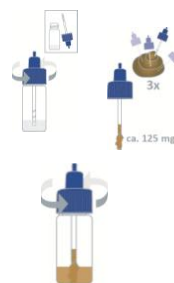
### 8. Preparazione e Raccolta del Campione

Raccogliere una quantità sufficiente di feci (1-2 gr o 1-2 mL per campioni liquidi). Raccogliere i campioni di feci in contenitori asciutti e puliti (non contenenti conservanti o terreni di trasporto). I campioni possono essere conservati in frigorifero (2-4°C) per 1-2 giorni prima di eseguire il test. Per conservazioni più lunghe si consiglia di congelare i campioni a -20°C. In questo caso, i campioni vanno completamente scongelati e portati a temperatura ambiente prima di eseguire il test.

### 9. Procedura del Test

#### Analisi del campione di feci:

Utilizzare un flacone di raccolta del campione differente per ogni campione. Svitare il tappo ed introdurre l'applicatore tre volte in tre punti differenti del campione al fine di raccogliere circa 125 mg di campione. Richiudere il flacone contenente il campione e la soluzione. Agitare il flacone in modo da assicurarsi che il campione si mescoli in maniera omogenea alla soluzione. Per i campioni

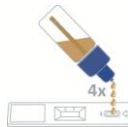
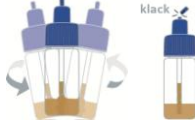


liquidi, aspirare il campione con un contagocce e aggiungere 125 µL di campione al flacone di raccolta del campione contenente la soluzione.

#### Procedura del Test:

Prima di eseguire il test portare i test, i campioni e le soluzioni a temperatura ambiente (15-30°C). Non aprire la confezione a meno che non siate pronti ad eseguire il test.

1. Estrarre il test a cassetta NADAL® Entamoeba dalla confezione e utilizzarlo il prima possibile.
2. Agitare il flacone in modo da assicurarsi che il campione si disperda in maniera omogenea. Rompere l'estremità del tappo del flacone di raccolta.
3. Utilizzare un nuovo test a cassetta per ogni campione. Versare 4 gocce nel pozzetto di raccolta del campione (S) del test a cassetta. Avviare il timer.
4. Leggere i risultati 10 minuti dopo l'aggiunta del campione nel pozzetto di raccolta del campione (S).



#### 10. Interpretazione dei Risultati

##### Positivo:

Si sviluppa una linea verde nella regione della linea di controllo (C) e una linea rossa nella regione della linea del test (T).



##### Nota bene:

L'intensità di colore della linea colorata nella regione della linea del test (T) può variare in rapporto alla concentrazione di antigeni nel campione. In ogni caso, nè il valore quantitativo nè il grado di aumento degli antigeni possono essere determinati con questo test qualitativo.

##### Negativo:

Si sviluppa una linea verde nella regione della linea di controllo (C). Non compare alcuna linea nella regione della linea del test (T).



##### Non valido:

La mancata comparsa della linea di controllo (C) indipendentemente dalla presenza o assenza della linea del test indica che è stato commesso un errore procedurale. Si consiglia di analizzare nuovamente il campione.



**Nota bene:** Un volume insufficiente di campione, tecniche procedurali scorrette o deterioramento dei reagenti sono tra le principali cause che potrebbero impedire la comparsa della linea di controllo. In tal caso si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo test a

cassetta. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.

#### 11. Controllo Qualità

Un controllo procedurale interno è inserito nel test a cassetta:

La linea verde che compare in corrispondenza della regione della linea di controllo (C) è da considerarsi un controllo procedurale interno. Ciò conferma che è stato utilizzato un volume sufficiente di campione, che la migrazione lungo la membrana è avvenuta in maniera corretta e che sono state applicate le giuste tecniche procedurali.

#### 12. Limiti del Test

- Il test NADAL® Entamoeba indica esclusivamente la presenza di parassiti nei campioni e va utilizzato solo per l'individuazione qualitativa degli antigeni dell'*Entamoeba* in campioni di feci. In ogni caso, nè il valore quantitativo nè il grado di aumento degli antigeni possono essere determinati con questo test qualitativo.
- L'utilizzo di una quantità eccessiva di campione potrebbe causare risultati errati (comparsa di linee marroni). In questo caso si consiglia di diluire il campione con la soluzione e ripetere il test.
- Se il risultato del test è negativo ma i sintomi clinici persistono, si consiglia di eseguire altri test utilizzando altri metodi clinici di analisi. Un risultato negativo non preclude in alcun caso la possibilità di amebiasi.
- Dopo una settimana dal manifestarsi dell'infezione, il numero di parassiti nelle feci diminuisce rendendo il campione meno reattivo. Pertanto, i campioni di feci dovrebbero essere raccolti entro una settimana dalla comparsa dei sintomi.
- Questo test fornisce una diagnosi preventiva per infezioni causate da *Entamoeba*. I risultati ottenuti andrebbero interpretati in congiunzione con altre analisi di laboratorio e informazioni cliniche reperibili dal medico.

#### 13. Risultati attesi

*E. histolytica* contamina più di 500 milioni di persone nel mondo intero. Fin dall'inizio, dopo la sua scoperta, è stato osservato che anche se l'*E. histolytica* causa principalmente infezioni lievi o asintomatiche, il 10% dei pazienti sviluppa gravi dissenterie e malattie extraintestinali invasive croniche.

Si stima che 100.000 persone decidono ogni anno a causa di coliti amebiche e ascessi epatici.

Il 90% dei casi di sindromi da dissenteria e diarrea sono causate da amebiasi intestinale invasiva.

#### 14. Caratteristiche Tecniche

##### Sensibilità, Specificità

Alcuni campioni di feci prelevati da pazienti ricoverati in diversi ospedali sono stati analizzati utilizzando il test NADAL® Entamoeba in comparazione con un altro test immunocromatografico. I risultati hanno dimostrato che il test NADAL® Entamoeba ha una sensibilità e una specificità maggiore del 99% (>99%).

##### Reattività incrociata

È stata effettuata una valutazione per determinare la reattività incrociata del test NADAL® Entamoeba. Non sono stati rilevati episodi di reattività incrociata con i comuni patogeni intestinali, altri organismi e sostanze presenti occasionalmente nelle feci con il test NADAL® Entamoeba: *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, *Giardia lamblia*, *H. pylori*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Shigella*.

#### 15. Bibliografia

1. REED S., et al. "Cloning of a Virulence Factor of *Entamoeba histolytica*". *Journal of Clinical Investigation*, Volume 91, April 1993, 1532-1540.
2. 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.
3. ESPINOSA-CANTELLANO M., et al. "Pathogenesis of Intestinal Amebiasis: From Molecules to Disease". *Clinical Microbiology Reviews*, Apr. 2000, p. 318–331.

Rev. 0, 2014-08-14 BN

### 1. Zastosowanie

Test NADAL® Entamoeba jest szybkim testem immunochromatograficznym do jakościowego wykrywania antygenów *Entamoeba spp.* w ludzkich próbkach kału. Test ten służy jako wsparcie w diagnozie infekcji amebozą.

### 2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Ameboza jest infekcją ludzkiego przewodu pokarmowego wywołaną przez *Entamoeba histolytica*, pasożyta pierwotniakowego, który wnika do błony śluzowej jelita i może się rozprzestrzenić do innych organów, głównie do wątroby. *Entamoeba dispar*, ameba morfologicznie podobna do *E. histolytica*, która także zasiedla ludzkie jelito, została niedawno rozpoznana jako osobny gatunek bez potencjału inwazyjnego. Uznanie *E. dispar* jako odrębnego, jednakże blisko spokrewnionego gatunku pierwotniaków miało duży wpływ na epidemiologię amebozy, ponieważ większość bezobjawowych infekcji, które są stwierdzane na całym świecie, pochodzi od tej nieinwazyjnej ameby.

Inwazyjna ameboza wywołana przez *E. histolytica* jest bardzo powszechna w krajach rozwijających się. Na obszarach o endemicznych infekcjach, warunki takie jak niewiedza, bieda, przeludnienie, braki wody i zanieczyszczone źródła wody oraz złe warunki sanitarne sprzyjają bezpośredniemu oralno-fekalnemu przeniesieniu ameb z jednej osoby na drugą. Według szacunków Światowej Organizacji Zdrowia, ameboza odpowiada rocznie za ok. 70 tysięcy przypadków śmiertelnych i jest przy tym czwartą główną przyczyną śmierci spowodowaną przez pierwotniaki, po malarii, chorobie Chagasa i leiszmaniozie, jak również trzecią przyczyną zachorowalności w tej grupie po malarii i rzęsiśtkowicy.

Pacjenci z dyzenterią mają przeciętnie trzy do pięciu wypróżnień zawierających krew i śluz na dzień z umiarkowanymi bólami kolkowymi, które poprzedzają wydalanie i bolesne parcia rektalne. Pacjenci z krwawą biegunką mają także niewielkie wypróżnienia, jednakże ich stolec składa się z płynnych fekalii z krwią. Chociaż występują umiarkowane bóle kolkowe, nie występuje bolesne parcie rektalne. Gorączka i przejawy systematyczne generalnie nie występują.

### 3. Zasada działania testu

Test NADAL® Entamoeba jest jakościowym testem immunologicznym typu lateral-flow do wykrywania antygenów *Entamoeba spp.* w ludzkich próbkach kału. Monoklonalne i poliklonalne przeciwciała przeciwko antygenom *Entamoeba* są umieszczone w obszarze linii testowej na membranie. Podczas przeprowadzania testu próbka reaguje z cząsteczkami, które są pokryte przeciwciałami przeciwko *Entamoeba* i znajdują się na membranie. Za pomocą sił kapilarnych mieszanina wędruje wzdłuż membrany. W przypadku wyniku pozytywnego, specyficzne przeciwciała unieruchomione na membranie reagują z mieszaniną koniugatu i prowadzą do powstania czerwonej linii. Zielona linia powinna zawsze się pojawić w obszarze linii kontrolnej. Służy ona jako wewnętrzna kontrola odczynników i jest potwierdzeniem, że dodano wystarczającą ilość próbki oraz że nastąpiło prawidłowe nasączenie membrany.

### 4. Materiały zawarte w zestawie

- 10 testów kasetowych NADAL® Entamoeba

- 10 próbek w buforem
- 1 instrukcja obsługi

### 5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Pojemniki na próbkę
- Rękawiczki jednorazowe
- Stoper

### 6. Data ważności i przechowywanie

Przechowywać w dostarczonej postaci w zamkniętym opakowaniu schłodzone lub w temperaturze (2-30°C). Test jest stabilny do daty podanej na opakowaniu foliowym. Do momentu użycia test musi pozostać w zamkniętym opakowaniu foliowym. Nie zamrażać.

### 7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Nie używać po upływie daty ważności.
- Do momentu użycia test musi pozostać w zamkniętym opakowaniu foliowym.
- Nie używać testu, jeżeli opakowanie foliowe jest uszkodzone.
- Podczas testowania próbek należy nosić ubranie ochronne takie jak kitel laboratoryjny, rękawiczki jednorazowe i okulary ochronne.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarze pracy z próbkami lub testem.
- Wszystkie próbki należy traktować jako potencjalnie zakaźne. Podczas testowania należy przestrzegać środków ostrożności dotyczących zagrożeń mikrobiologicznych a podczas usuwania próbek należy stosować się do standardowych procedur.
- Test należy usunąć do pojemnika na odpady biologicznie niebezpieczne.
- Test musi zostać przeprowadzony w ciągu 2 godzin od otwarcia foliowego opakowania.

### 8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Pobrać odpowiednią ilość próbki kału (1-2 g lub 1-2 ml w przypadku próbki płynnej). Próbki należy pobierać do czystych i suchych pojemników (bez środków konserwujących i środków przeznaczonych do transportu). Przed przeprowadzeniem testu próbki mogą być przechowywane w lodówce (w temperaturze 2-4°C) przez 1-2 dni. W celu dłuższego przechowywania próbki powinny zostać zamrożone do temperatury -20°C. W takim przypadku, przed przeprowadzeniem testu próbki muszą zostać dokładnie rozmrożone i doprowadzone do temperatury pokojowej.

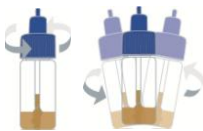
### 9. Przeprowadzanie testu

#### Testowanie pobranych próbek kału:

Należy używać osobnych próbek dla każdej próbki. Otworzyć nakrętkę próbowki i spiralną szpatułką nakłuć próbkę kału w trzech różnych miejscach, aby pobrać ok. 125 mg próbki. Zamknąć próbowkę z buforem i próbką kału. Wstrząsnąć próbowką aby dokładnie wymie-



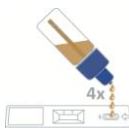
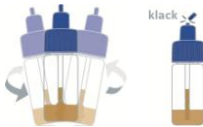
ścić próbkę. W przypadku płynnych próbek kału, pobrać próbkę za pomocą pipety i dodać 125 µL próbki do probówki z buforem.



#### Przeprowadzanie testu:

Przed przeprowadzeniem testu, doprowadzić testy, próbkę kału i bufor do temperatury pokojowej (15-30°C). Otworzyć opakowanie foliowe dopiero tuż przed przeprowadzeniem testu.

1. Wyjąć test kasetowy NADAL® Entamoeba z foliowego opakowania i użyć go tak szybko jak to możliwe.
2. Wstrząsając probówką aby dokładnie wymieszać próbkę. Odtłamać końcówkę probówki.
3. Używać osobnych testów dla każdej próbki. Nanieść 4 krople roztworu do otworu na próbkę (S) na kasetce testowej. Włączyć stoper.
4. Odczytać wynik po 10 minutach od naniesienia próbki do otworu na próbkę (S).



#### 10. Interpretacja wyników

##### Pozytywny:

Pojawia się zielona linia w obszarze linii kontrolnej (C) i czerwona linia w obszarze linii testowej (T).



##### Wskazówka:

Intensywność zabarwienia linii w obszarze linii testowej (T) może się różnić w zależności od koncentracji antygenów zawartych w próbce. Za pomocą tego testu jakościowego nie można określić ani wartości ilościowej ani wzrostu antygenów.

##### Negatywny:

Pojawia się zielona linia w obszarze linii kontrolnej (C). Nie pojawia się linia w obszarze linii testowej (T).



##### Nieważny

Niepojawienie się zielonej linii kontrolnej (C) niezależnie od pojawienia się bądź niepojawienia się czerwonej linii testowej wskazuje na nieprawidłowy przebieg testu. W takim przypadku próbka powinna zostać przetestowana ponownie.



**Wskazówka:** niewystarczająca ilość próbki, nieprawidłowe przeprowadzenie testu bądź upływ terminu ważności testów są najbardziej prawdopodobnymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej. W takim przypadku należy ponownie zapoznać się z procedurą przeprowadzania testu i przeprowadzić badanie przy użyciu nowego testu. Jeżeli problem się powtarza, należy zaprzestać używania testu i skontaktować się z dystrybutorem.

#### 11. Kontrola jakości:

Test kasetowy zawiera wewnętrzną kontrolę.

Zielona linia pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) służy jako kontrola wewnętrzna. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany.

#### 12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® Entamoeba wskazuje tylko obecność pasożytów w próbce i powinien być wykorzystywany wyłącznie do jakościowego wykrywania antygenów Entamoeba w próbkach kału. Za pomocą tego testu jakościowego nie można określić ani wartości ilościowej ani wzrostu antygenów.
- Nadmiar próbki może prowadzić do fałszywych wyników (pojawienie się brązowych linii). Rozcieńczyć próbkę buforem i powtórzyć test.
- Jeżeli wynik testu jest negatywny a symptomy kliniczne się utrzymują, zaleca się przeprowadzenie dodatkowych badań przy użyciu innych metod klinicznych. Wynik negatywny w żadnym wypadku nie wyklucza zachorowania na amebę.
- Po tygodniu infekcji liczba pasożytów w kale spada i przez to próbka staje się mniej reaktywna. Próbkę kału powinny zostać pobrane w ciągu tygodnia od wystąpienia symptomów.
- Test ten umożliwia wstępną diagnozę infekcji Entamoeba. Wszystkie wyniki muszą być interpretowane łącznie z innymi klinicznymi informacjami i wynikami laboratoryjnymi, dostępnymi lekarzowi.

#### 13. Oczekiwane wartości

Entamoeba histolytica infekuje na całym świecie ponad 500 milionów ludzi. Prawie od samego jej odkrycia zaobserwowano, że chociaż *E. histolytica* wywołuje najczęściej słabe lub asymptomatyczne infekcje, u 10% pacjentów występują ciężka dysenteria bądź inwazyjne i pozapokarmowe zachorowania zagrażające życiu.

Szacuje się, że każdego roku 100.000 ludzi umiera z powodu pełzakowego zapalenia jelita grubego i pełzakowego ropnia wątroby.

Syndromy dysenteryczne i biegunkowe są odpowiedzialne za 90% przypadków inwazyjnej amebosy jelitowej.

#### 14. Charakterystyka testu

##### Czułość i swoistość

Próbki kału od pacjentów z różnych szpitali zostały przetestowane przy użyciu testu NADAL® Entamoeba w porównaniu z innym testem immunochromatograficznym. Wyniki wskazują, że czułość test NADAL® Entamoeba wynosi >99% a swoistość >99%.

##### Reakcje krzyżowe

Przeprowadzono ocenę celem określenia reakcji krzyżowych testu NADAL® Entamoeba. Używając testu NADAL® Entamoeba nie zaobserwowano reakcji krzyżowych ze zwyczajowymi zarazkami układu pokarmowego, innymi organizmami i substancjami, które okazjonalnie występują w próbkach kału: *Escherichia coli*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, *Giardia lamblia*, *H. pylori*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Shigella*.













## 15. Bibliografia

1. REED S., et al. "Cloning of a Virulence Factor of Entamoeba histolytica". *Journal of Clinical Investigation*, Volume 91, April 1993, 1532-1540.
2. 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.
3. ESPINOSA-CANTELLANO M., et al. "Pathogenesis of Intestinal Amebiasis: From Molecules to Disease". *Clinical Microbiology Reviews*, Apr. 2000, p. 318-331.

Rev. 0, 2014-08-14 MW





Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consultense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	In-vitro-Diagnostika	In-vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Tylko do diagnostyki in vitro
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Limitación de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Code du lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour pour "n" tests	Válido para para <n> ensayos	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

### Our Teams

#### Germany:

##### Regensburg

Tel: +49 941 290 10-0  
 Fax: +49 941 290 10-50

##### Moers

Tel: +49 2841 99820-0  
 Fax: +49 2841 99820-1

##### Austria:

Tel: +49 941 290 10-29  
 Free Tel: 0800 291 565  
 Fax: +49 290 10-50  
 Free Fax: 0800 298 197

##### UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18  
 Free Tel –UK: 0808 234 1237  
 Free Tel – IRE: 1800 555 080  
 Fax: +49 290 10-50

##### France:

France Tel: 0800 915 240  
 France Fax: 0800 909 493

#### Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720  
 Swiss Fax: 0800 837 476

#### Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82  
 Belgium Fax: 0800 747 07

#### Luxembourg

Lux. Tel: 800 211 16  
 Lux. Fax: 800 261 79

#### Spain:

Tel: +49 941 290 10-759  
 Free Tel: 900 938 315  
 Fax: +49 941 290 10-50  
 Free Fax: 900 984 992

#### Italy:

Tel: +49 941 290 10-34  
 Fax: +49 941 290 10-50

#### Poland:

Tel: +49 941 290 10-44  
 Free Tel: 00 800 491 15 95  
 Fax: +49 941 290 10-50  
 Free Fax: 00 800 491 15 94

#### Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735  
 Tel. Verde: 800 849 230  
 Fax: +49 941 290 10-50  
 Fax Verde: 800 849 229

#### Netherlands:

Tel: +31 30 75 600  
 Free Tel: 0800 0222 890  
 Fax: +31 70 30 30 775  
 Free Fax: 0800 024 9519

#### Denmark:

Tel: +31 703075 603  
 Free Tel: +45 80 88 87 53  
 Tax: +31 703030 775

#### Laboratory Diagnostics Team:

Tel: +49 941 290 10-40  
 Fax: +49 941 290 10-50



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany  
 www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com  
 Fon: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1