

VITASSAY

Entamoeba

Test rapide pour la détection qualitative de *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar* dans les selles humaines.

IUFR-7355036-67 Ed00 Décembre 2020



Usage Diagnostic *In Vitro* uniquement

UTILISATION

Vitassay Entamoeba est un test immunochromatographique rapide pour la détection qualitative d' *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar* dans les selles humaines.

C'est un test de dépistage simple, non invasif, et très sensible pour le diagnostic des infections à *Entamoeba* (amoebiasis).

INTRODUCTION

Entamoeba histolytica est un parasite protozoaire qui envahit l'épithélium intestinal via un processus biologique cellulaire unique appelé trophocytose, aboutissant à la diarrhée, la dysenterie et la maladie intestinale.

L'*Entamoeba* contient beaucoup d'espèce (six) lesquelles sont trouvées dans le tube digestif humain: *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmanni* et *Entamoeba polecki*. De cette espèce, seulement *E. histolytica* est associé aux blessures pathologiques; les autres espèces sont considérées non pathogènes.

La nourriture et la boisson contaminée par des excréments contenant les kystes sont une source commune d'infection. La plupart des cas résultent de transporteurs humains, passeurs de kystes, qui transfèrent des kystes dans les selles formées ou semi-formées.

Parce que la transmission par la nourriture et l'eau contaminée est fréquemment associée aux enfants en bas âge, les jeunes contaminés n'attendent pas pour développer l'amebiasis très souvent. La maladie plus sévère est associée au jeune âge, à la malnutrition et à l'immunodépression.

La forme mobile d'*E. histolytica* (trophozoïte) habite le colon humain où il se multiplie et se différencie dans les kystes qui sont excrétés dans l'environnement. À son tour, ces kystes sont responsables de la transmission de l'infection à un autre hôte via la voie orale fécale. Le parasite envahit la muqueuse intestinale et cause beaucoup de formes de maladie envahissante, y compris la dysenterie. Le parasite présente également une diffusion hématogène et cause des lésions extra-intestinales, principalement les abcès du foie. La dernière forme arrive seulement rarement. La maladie envahissante arrive quand virulent les trophozoïtes qui perturbent la barrière muqueuse épithéliale en traversant la couche de mucus, endommageant ainsi des cellules intestinales. Ces dégâts mènent à l'inflammation et, par conséquent, la dysenterie. Néanmoins, la majorité des infections semble être asymptomatiques.

PRINCIPE

Vitassay Entamoeba est un test immunochromatographique qualitatif pour un diagnostic présomptif des infections liées à *Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar* dans les selles humaines.

La zone réactive (ligne test) de la membrane de nitrocellulose est préalablement sensibilisée par des anticorps monoclonaux contre *Entamoeba*.

Au cours du processus, l'échantillon réagit avec les anticorps contre *Entamoeba*, formant des conjugués. Le mélange se déplace latéralement sur la membrane par capillarité. Si l'échantillon est positif, les anticorps présents sur la membrane (ligne test) capturent le complexe conjugué et une ligne **rouge** sera visible. Que l'échantillon soit positif ou négatif, le mélange continue à traverser les membranes et la ligne de contrôle **verte** apparaît toujours.

La présence de cette ligne **verte** (dans la zone de contrôle (C)) indique qu'un volume suffisant est ajouté; l'écoulement est obtenu et sert de témoin interne pour les réactifs.

PRECAUTIONS

- Usage professionnel *in vitro* uniquement.
- Ne pas utiliser après la date d'expiration.
- Ne pas utiliser le test si son sachet est endommagé.
- Les échantillons sont à considérer comme potentiellement dangereux et à gérer de la même manière qu'un agent infectieux. Un nouveau test doit être utilisé pour chaque échantillon afin d'éviter les erreurs de contaminations. Dispositif à usage unique.
- Les tests doivent être jetés dans un récipient approprié pour réactifs dangereux après leur utilisation.
- Les réactifs contiennent des conservateurs. Éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses. Consulter la fiche de sécurité, disponible sur demande.
- Les composants fournis dans le kit sont homologués pour une utilisation avec **Vitassay Entamoeba**. Ne pas utiliser n'importe quel composant d'un autre kit commercial.
- Suivre les Bonnes Pratiques de Laboratoire, porter des vêtements protecteurs, utiliser un masque, des lunettes et des gants jetables. Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de travail.

STOCKAGE ET STABILITE

Stocker dans le sachet scellé au réfrigérateur ou à température ambiante (entre 2°C et 30 °C).

Le test est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur le sachet scellé.

Le test doit rester dans son sachet scellé jusqu'à utilisation. Ne pas congeler.

MATERIELS

MATERIEL FOURNI	MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI
<ul style="list-style-type: none"> 25 tests/kit Vitassay Entamoeba. 3 Notices d'utilisation (Kit complet ; Contrôle + ; Contrôle -). 25 tubes avec diluant pour échantillon. Vitassay Entamoeba positive control Vitassay écouvillon negative control 	<ul style="list-style-type: none"> Récipient pour échantillon. Gants jetables. Minuteur.

PRELEVEMENT DE L'ÉCHANTILLON

Quantité suffisante de matières fécales : 1 à 2g ou mL pour les échantillons liquides. Les échantillons de selles doivent être recueillis dans des récipients propres et secs.

Les échantillons peuvent être conservés dans le réfrigérateur (entre 2°C et 8°C) pendant 1 à 2 jours avant le test. Pour une conservation plus longue, de 1 an maximum, l'échantillon doit être congelé à -20°C. Les échantillons doivent être ramenés à température ambiante avant le test.

PREPARATION PRELEVEMENT DE L'ÉCHANTILLON

1. Enlever le bouchon du flacon contenant le diluant pour la dilution de l'échantillon (figure 1).
2. Utiliser la tige pour recueillir la quantité suffisante d'échantillon. Pour les selles solides, insérer la tige dans 4 zones différentes de l'échantillon de selles, prélever environ 125mg (figure 2), et l'ajouter dans le flacon avec le diluant de dilution de l'échantillon. Pour les selles liquides, déposer 125µL d'échantillon à la micropipette dans le flacon de dilution de l'échantillon.
3. Fermer le flacon avec le diluant et l'échantillon de selles. Agiter vigoureusement le flacon afin d'assurer une bonne homogénéité de l'échantillon (figure 3).



Figure 1: Flacon pour la dilution de l'échantillon

Flacon pour la dilution de l'échantillon

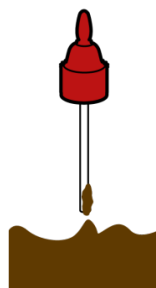


Figure 2: Insérer la tige dans 4 zones différentes de la selle

Insérer la tige dans 4 zones différentes de la selle

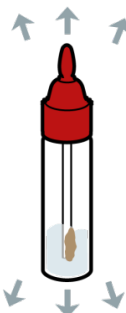


Figure 3: Déposer l'échantillon, refermer puis agiter.

Déposer l'échantillon, refermer puis agiter.

PROCEDURE

Laisser le test, l'échantillon de selles, les contrôles et le diluant revenir à température ambiante (entre 15°C et 30 °C) avant d'effectuer le test. Ne pas ouvrir les sachets jusqu'à la réalisation du test.

1. Agiter le flacon avec l'échantillon pour obtenir une dilution de l'échantillon correcte.
2. Retirer le **Vitassay Entamoeba** de sa pochette protectrice juste avant son utilisation.

3. Prendre le flacon contenant l'échantillon dilué, couper l'extrémité du bouchon (figure 4) et déposer 4 gouttes dans la fenêtre circulaire repérée par la lettre S (figure 5).

4. Lire les résultats à **10 minutes**. Ne pas lire les résultats au delà de 10 minutes.

Si le test ne fonctionne pas en raison de particules solides, agiter à l'aide de la tige l'échantillon ajouté dans la fenêtre circulaire. Si ça ne fonctionne pas, déposer une goutte de diluant jusqu'à ce que le liquide migre dans la zone réactionnelle.



Figure 4: Couper l'extrémité du bouchon.

Couper l'extrémité du bouchon.

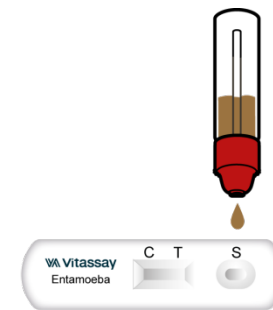


Figure 5: Déposer 4 gouttes dans la fenêtre repérée par la lettre S

Déposer 4 gouttes dans la fenêtre circulaire repérée par la lettre S

INTERPRETATION OF THE RESULTS

	NEGATIF	
	Une seule ligne verte dans la zone de contrôle (C).	Absence d'Entamoeba histolytica ou Entamoeba dispar. Aucune par infection causée par E.Histolytica ou E.Dispar.
	En plus de la ligne verte (ligne de contrôle C), présence d'une ligne rouge (ligne de test T).	Présence d'Entamoeba histolytica ou Entamoeba Dispar. Infection causée par Entamoeba histolytica ou E.Dispar.

AUTRES RESULTATS	<p>Résultat non valide, il est recommandé de répéter le test à l'aide de l'échantillon avec un autre test.</p> <p>Remarque: Procédure technique incorrecte ou détérioration des réactifs sont habituellement les principales raisons de la défaillance de la ligne de contrôle. Si les symptômes ou la situation persiste, cesser d'utiliser le kit et contacter le distributeur local.</p>
-------------------------	--

Remarque: L'intensité de la ligne de test de couleur **rouge** dans la zone de la ligne de résultat (T) varie en fonction de la concentration d'antigènes dans l'échantillon.

CONTRÔLE DE QUALITE

Un contrôle interne est inclu dans le kit **Vitassay Entamoeba**. La ligne **verte** qui apparaît dans la fenêtre de résultats est un contrôle interne qui confirme le bon fonctionnement technique du test et que le volume d'échantillon déposé est suffisant.

LIMITES

- **Vitassay Entamoeba** doit être effectué dans les 2 heures après ouverture de la pochette scellée.
- Un excès d'échantillon de selles peut être à l'origine de résultats erronés (apparition de bandes brunes). Diluer l'échantillon avec le diluant et refaire le test.
- L'intensité de la ligne de test peut varier en fonction de la concentration en antigènes.
- L'utilisation d'échantillons autres que des échantillons humains n'a pas été établie.
- La qualité du test **Vitassay Entamoeba** dépend de la qualité de l'échantillon. Des échantillons de selles corrects doivent être obtenus.
- Des résultats positifs déterminent la présence d'*Entamoeba histolytica* et/ou d'*E.Dispar* dans les selles. Un résultat positif devrait être complété par des techniques invasives supplémentaires (méthode biochimique ou microscopique) pour confirmer les résultats. La décision d'une infection confirmée doit être prise uniquement par un médecin après évaluation de tous les résultats cliniques et de laboratoire et doit reposer sur la corrélation des résultats avec d'autres observations cliniques.
- Un résultat négatif n'a pas de valeur négative définitive. Il est possible que la concentration d'antigènes soit inférieure à la valeur limite de détection. Si la situation ou les symptômes persistent, procéder à une détermination d'*Entamoeba histolytica* et/ou d'*E.Dispar* sur un échantillon d'une culture

d'enrichissement ou par une utilisation d'une autre technique (ex : microscopie).

VALEURS ATTENDUES

L'infection à *Entamoeba histolytica* est la troisième-plus-grande maladie parasitaire responsable de la mort dans le monde après la malaria et la schistosomiase. Elle affecte environ 180 millions de personnes, de ceux-ci, 40000 à 110000 meurent chaque année. Les infections à *Entamoeba histolytica* sont mondiales, plus communes sous les tropiques et les sous-tropiques.

PERFORMANCE

Sensibilité et spécificité cliniques

Une évaluation a été réalisée en comparant le test **Vitassay Entamoeba** et un autre test commercial (RIDA®QUICK Entamoeba, R-Biopharm avec AG) avec des échantillons de matière fécale. Les résultats sont les suivants:

		RIDA®QUICK Entamoeba		
		Positive	Negative	Total
Vitassay Entamoeba	Positif	5	0	5
	Négatif	0	20	20
	Total	5	20	25

Vitassay Entamoeba contre RIDA®QUICK Entamoeba			
Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
>99%	>99%	>99%	99%

Les résultats ont montré que **Vitassay Entamoeba** a une sensibilité et spécificité très élevées pour détecter l'*Entamoeba histolytica* et *Entamoeba dispar*.

Réactions croisées

Aucune réactivité croisée n'a été détectée contre les agents pathogènes gastro-intestinaux qui sont parfois présents dans les selles:

<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Escherichia coli O157:H7</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Giardia lamblia</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	

REFERENCES

1. HANS P. VERKERKE; BLAKE HANBURY; ABDULLAH SIDDIQUE; AMIDOU SAMIE; RASHIDUL HAQUE; JOEL HERBEIN; WILLIAM A.

PETRI, JR. "Multisite Clinical Evaluation of a rapid test for *Entamoeba histolytica* in stool". Journal of Clinical Microbiology, February 2015, Vol. 53, Number 2, pp. 493-497.

2. THIAGO DOS SANTOS COMES; MARIANA COIMBRA GARCIA; FLAVIA DE SOUZA CUNHA; HELOISA WERNECK DE MACEDO; JOSÉ MAURO PERALTA; REGINA HELENA SARAMAGO PERALTA. "Differential diagnosis of *Entamoeba* spp. in clinical samples using SYBR Green real-time Polymerase Chain Reaction". Hindawi Publishing Corporation – The Scientific World Journal, vol 2014, article ID 645084, 8 pages.











3. LAU, Y.L.; JAMAIAH, I.; ROHELA, M.; FONG, M.Y.; SITI, C.O.S.; SITI, F.A. "Molecular detection of *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar* infection among wild rats in Kuala Lumpur, Malaysia. Tropical Biomedicine 31(4): 721-727 (2014).

4. MOUSTAFA ABDELAAL HEGAZI; TABAREK AHMED PATEL; BASEM SALAMA EL-DEEK. "Prevalence and characters of *Entamoeba histolytica* infection in Saudi infants and children admitted with diarrhea at 2 main hospitals at south Jeddah: a re-emerging serious infection with unusual presentation". The Brazilian Journal of Infectious Diseases, 2013; 17(1):32-40.

5. DEIVIANE APARECIDA CALEGAR; BEATRIZ CORONATO NUNES; KERLA JOELINE LIMA MONTEIRO; JESSICA PEREIRA DOS SANTOS; HELENA KEIKO TOMA; TAIS FERREIRA COMES; MARLI MARIA LIMA; MARCIO NEVES BOIA; FILIPE ANIBAL CARVALHO-COSTA. "Frequency and molecular characterization of *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Entamoeba moshkovskii*, and *Entamoeba hartmanni* in the context of water scarcity in northeastern Brazil". Mem Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 111(2): 114-119, February 2016.

6. PIOTR NOWAK; KATARZYNA MASTALSKA; JAKUB LOSTER. "Entamoeba Histolytica – Pathogenic Protozoan of the Large Intestine in Humans". Journal of Clinical Microbiology and Biochemical Tecnology 1(1): 010-017.

SYMBOLES IVD DES COMPOSANTS ET REACTIFS

	Dispositif de diagnostic in vitro		Maintenir au sec
	Consulter la notice d'utilisation		Limites de température
	Expire le		Fabricant
	N° de lot		Quantité suffisante pour <n> tests
	Diluant d'échantillon		Code produit

