

Prueba Rápida de *Entamoeba histolytica*

(Heces)
ENH 0724/01
REF DMENT01

Uso deseado

La prueba rápida de *Entamoeba histolytica* (heces) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica* en heces humanas.

Resumen

La infección por *Entamoeba histolytica* es considerada como la cuarta causa parasitaria a nivel mundial, se trata de una de las seis especies de amebas que pueden parasitar al ser humano [1,2]. La *Entamoeba histolytica* (*E. histolytica*), es un protozooario que se transmite por vía fecal-oral por el consumo de alimentos o agua contaminada, para ello el patógeno debe encontrarse en su forma de quiste, que es su forma infectante, luego de ser ingeridos madurarán en trofozoítos, mismos que se multiplicarán por fisión binaria y migrarán al intestino grueso hasta ser eliminados en las heces [1]. Usualmente cuando el parásito ingresa al huésped solo coloniza su intestino grueso y no causa síntomas clínicos, sin embargo, en algunos casos puede causar diarrea aguda o disentería (flujo de sangre), en ocasiones este parásito atraviesa la barrera epitelial mucosa causando una colitis amebiana que más tarde puede diseminarse a otros órganos resultando en abscesos hepáticos. El diagnóstico de *E. histolytica* puede complicarse debido a la existencia de otra especie morfológicamente idéntica la *Entamoeba dispar*, la cual no es patógena por lo que identificar sus diferencias genómicas o de antígeno facilita su detección [3,4].

Principio

La prueba rápida de *Entamoeba histolytica* para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica* en muestras de heces humanas es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. El cartucho de prueba tiene una membrana con dos regiones: una de prueba (T) y una de control (C). Dicha membrana posee un 'conjugado' conformado por partículas de oro coloidal e impresos anticuerpos de captura 'línea de prueba' y anticuerpos anti-ratón 'línea control'. Una vez que la muestra es depositada en el pozo (S) del cartucho junto con el reactivo de corrimiento, esta migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de antígeno *E. histolytica* por debajo del límite de detección no se formará el complejo antígeno-anticuerpo evitando la aparición de una línea de color en la región de prueba (T), esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de antígeno *E. histolytica* por encima del límite de detección se formará el complejo antígeno-anticuerpo generando la aparición de una línea de color en la región de prueba (T), esto indica un resultado positivo. La prueba incluye un control (C), por lo que, siempre debe de aparecer una línea de color en dicha región, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó exitosamente.

Reactivos

La prueba contiene un conjugado de partículas de oro coloidal, anticuerpos anti-*E. histolytica* y anticuerpos anti-ratón.

Precauciones

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos.
- No utilice la prueba después de la fecha de caducidad.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilice la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilice bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en la bolsa sellada, a temperatura ambiente o refrigerada (15-30°C). Nota: NO CONGEE LA PRUEBA.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

Almacenamiento de la muestra

- La muestra debe ser recolectada y almacenada en un recipiente estéril, seco e impermeable sin detergentes, conservadores o medios de transporte.
- Almacene la muestra a una temperatura de 2-8 °C durante un máximo de 3 días posterior a su recolección, en caso de necesitar conservarla por más tiempo almacénela a -20 °C.
- Si la muestra debe de ser enviada, empáquela de acuerdo a la regulación federal para la transportación de agentes etiológicos.

Materiales

Materiales incluidos:

- Prueba rápida en cartucho
- Tubo colector con reactivo de corrimiento
- Instructivo de uso
- Gotero

Materiales requeridos, pero no incluidos:

- Temporizador
- Contenedor de muestra (s)

Materiales opcionales:

- Centrifuga
- Gotero para muestras líquidas

Obtención de muestra

Realice los pasos que se describen a continuación:

- Coloque entre 1-2 mL o 1-2 gramos de heces en un contenedor de recolección que este estéril y seco.
Nota: Para obtener mejores resultados realice el análisis de la muestra antes de las 6 horas posteriores a su recolección.

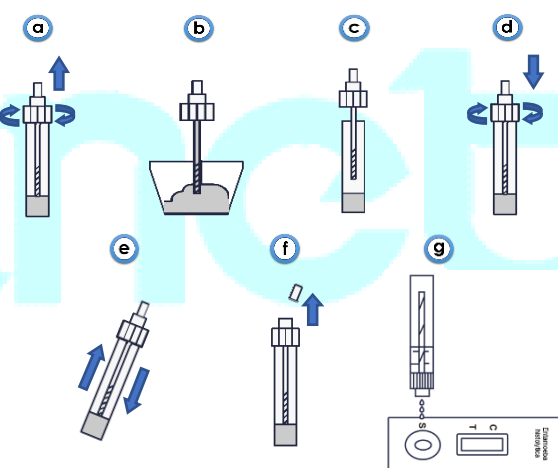
Instrucciones de uso

Deje que la prueba, muestra y reactivo de corrimiento alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de utilizar la prueba. Retire la prueba de la bolsa sellada y utilícela inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada, siga los pasos que se describen a continuación según el tipo de muestra:

Muestras sólidas

- Tome el tubo colector (incluido en el kit) y desenrosque la tapa.
- Pinche la muestra con el aplicador del tubo colector, de forma aleatoria por al menos 3 veces en sitios de la muestra hasta recolectar aproximadamente 50 mg de heces (equivalente a 1/4 de un chicharo).
- Una vez obtenida la cantidad de muestra suficiente, regrese el aplicador al tubo colector.
- Enrosque la tapa hasta cerrar el tubo perfectamente.
- Agite vigorosamente el tubo.
- Deje reposar el tubo por dos minutos, después retire la punta del tubo colector (tapa).
- Agregue 2 gotas (aproximadamente 80 µL) de la muestra en el pozo (S) del cartucho y programe un temporizador por 5 minutos.
Nota: Si no se visualiza la migración de la muestra en la tira del cartucho de prueba, centrifugue la muestra con todo y solución, después repita el paso g.
- Lea el resultado, una vez haya finalizado el temporizador.
Nota: No interprete el resultado después de 10 minutos.

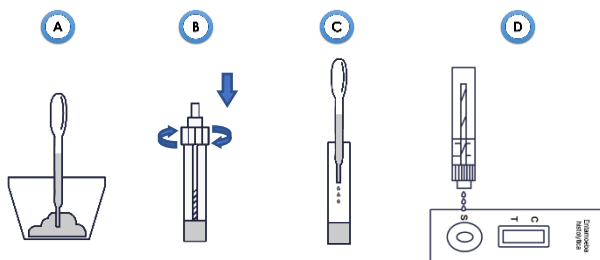
Muestras sólidas



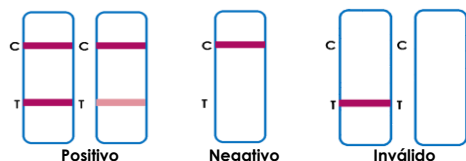
Muestras líquidas

- Con ayuda de un gotero, sosténgalo de forma vertical con la punta apuntando a la muestra fecal, apriete el bulbo y recolecte la muestra.
- Tome el tubo colector (incluido en el kit) y desenrosque la tapa.
- Transfiera 2 gotas de la muestra (aproximadamente 80µl) al tubo colector con reactivo de corrimiento (incluido en el kit) y ciérrelo perfectamente.
- Agregue 2 gotas (aproximadamente 80 µl) de la muestra en el pozo (S) del cartucho y programe un temporizador por 5 minutos.
- Lea el resultado, una vez haya finalizado el temporizador.
Nota: No interprete el resultado después de 10 minutos.

Muestras líquidas



Interpretación de resultados



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO: Aparece una línea de color en la región de prueba (T) y una línea de color en la región control (C). Nota: La intensidad del color en la región de prueba (T) puede variar, por lo que, cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región control (C). No aparece ninguna línea en la región de prueba (T).

INVÁLIDO: La línea de la región control (C) no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, suelen ser las razones más probables de la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba, si el problema persiste deje de usar el cartucho inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. Una línea de color aparece en la región control (C) confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos o negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio.

Limitaciones

1. La prueba rápida *Entamoeba histolytica* (heces) es solo para diagnóstico *in vitro*.
2. El resultado de esta prueba solamente es cualitativo.
3. Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible para el médico.
4. Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, realice una prueba con otro método clínico disponible. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección.

Valores esperados

La prueba rápida *Entamoeba histolytica* (heces) para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica* en heces humanas fue comparada con una prueba líder de *Entamoeba histolytica* disponible en el mercado, se obtuvo una precisión global de 99.2%.

Características de rendimiento

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

Se utilizó la prueba rápida *Entamoeba histolytica* (heces) para procesar un total de 142 muestras, de las cuales solo 24 procedían de personas con síntomas relacionados a una infección por *Entamoeba histolytica*. Los resultados de las 142 muestras fueron confirmados por medio de una prueba líder de *Entamoeba histolytica* disponible en el mercado, en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos:

Método	Prueba comercial		Resultados totales
	Resultados		
	Positivo	Negativo	
Prueba rápida <i>Entamoeba histolytica</i> (heces)	Positivo	22	23
	Negativo	1	119
Resultados totales		23	142

Sensibilidad relativa: 95.70% (95% IC: 78.10%-99.99%)

Especificidad relativa: 99.20% (95% IC: 95.40%-99.99%)

Precisión relativa: 98.60% (95% IC: 95.00%-99.80%)

IC: Intervalo de Confianza

Precisión

Intra-Ensayo

La repetibilidad de la prueba fue determinada utilizando 20 réplicas por cada una de las siguientes muestras: una negativa, tres positivas (baja, media y alta). Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Inter-Ensayo

La reproducibilidad de la prueba fue determinada mediante 10 réplicas de 3 lotes diferentes realizados en 2 días para cada una de las siguientes muestras: una negativa, tres positivas (baja, media y alta). Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Reactividad cruzada

Se analizaron los siguientes patógenos gastrointestinales con la prueba rápida *Entamoeba histolytica* (heces), se realizaron 20 réplicas por cada uno, se incluyó una muestra positiva y negativa a *Entamoeba histolytica*. Ninguno presentó reactividad cruzada.

- *Campylobacter coli*
- *Campylobacter jejuni*
- *E. coli* O157:H7
- *H. pylori*
- *Salmonella enteritidis*
- *Salmonella paratyphi*
- *Salmonella typhi*
- *Salmonella typhimurium*
- *Clostridium difficile*
- *Staphylococcus aureus*
- *Yersinia enterocolitica*
- *Leishmania monocytogene*

Referencias

- [1]. J. Flea Zaragoza, O. Bueno Lozano, M. Bueno Lozano Amebiasis intestinal y absceso hepático amebiano. Asociación Internacional de Zoonosis. Departamento de Pediatría. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. (Zaragoza), 2000; 36. (3): 96- 101.
- [2]. R. Fotedar, D. Stark, N. Beebe, D. Marriott, J. Ellis, and J. Harkness. Laboratory Diagnostic Techniques for Entamoeba. Clinical Microbiology Reviews, 2007; 20 (3): 511- 532.
- [3]. López MC, Quiroz DA, Pinilla AE. Diagnosis of intestinal and extraintestinal amebiasis. Acta Médica Colombiana, Bogotá, 2008; 33 (2): 20- 28.
- [4]. Ghosh S, Frisardi M, Ramirez-Avila L, Descoteaux S, Sturm-Ramirez K, Newton-Sanchez OA, Santos-Preciado JI, Ganguly C, Lohia A, Reed S, Samuelson J. Molecular Epidemiology of Entamoeba spp.: Evidence of a Bottleneck (Demographic Sweep) and Transcontinental Spread of Diploid Parasites. Journal of Clinical Microbiology. 2000; 38 (10): 3815-3821.

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>
	Almacenar entre 15 – 30 °C
	No utilizar si el paquete está dañado
UPI	Uso para investigación

	Caducidad
REF	Número de catálogo
LOT	Número de lote
	No reutilizar

