

### Entamoeba MonlabTest®



MO-804021 20 TESTS

One Step Entamoeba Antigen Test Device



A rapid, one step test for the qualitative detection of *Entamoeba histolytica* and *dispar* antigens in human feces.

For professional *in vitro* diagnostic use only.

#### INTENDED USE

The Entamoeba MonlabTest® test is a rapid chromatographic immunoassay for the qualitative detection of *Entamoeba histolytica* and *dispar* antigens in human feces specimens to aid in the diagnosis of amoebiasis.

#### SYNTHESIS

Amoebiasis is the infection of the human gastrointestinal tract by *Entamoeba histolytica*, a protozoan parasite that is capable of invading the intestinal mucosa and may spread to other organs, mainly the liver. *Entamoeba dispar*, an ameba morphologically similar to *E. histolytica* that also colonizes the human gut, has been recognized recently 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 the epidemiology of amoebiasis, since most asymptomatic infections found worldwide are now attributed to this noninvasive ameba.

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 favor direct fecal-oral transmission of amebas 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 recent World Health Organization estimates.

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

#### PRINCIPLE

The Entamoeba MonlabTest® is a qualitative lateral flow immunoassay for the detection of *Entamoeba histolytica* and *dispar* antigen in human feces samples. The membrane is pre-coated with monoclonal antibodies against *Entamoeba* antigens on the test line region. During testing, the sample reacts with the particle coated with anti-*Entamoeba* antibodies which were pre-dried on the test strip. The mixture moves upward on the membrane by capillary action. In the case of a positive result, the specific antibodies present on the membrane will react with the mixture conjugate and generate a coloured line. A green coloured line always appears in the control line and serves as verification that sufficient volume was added, that proper flow was obtained and as an internal control for the reagents.

#### PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- The test should remain in the sealed pack until use.
- Do not use the test if pack is damaged.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, do not eat, drink or smoke in the area.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- 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 bag.
- The presence of yellow lines in the results window (control and test line zone) that are visible before using the test are completely normal. That not means failure on test functionality.

#### STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pack either at refrigerated or room temperature (2-30°C/36-86°F). The test is stable through the expiration date printed on the sealed pack. The test must remain in the sealed pack until use. Do not freeze.

#### MATERIALS PROVIDED

- 20 Tests
- Instructions for use
- 20 specimen collection vial with buffer

#### MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

#### SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Collect sufficient quantity of feces (1-2 g or mL for liquid sample). Stool samples should be collected in clean and dry containers (no preservatives or transport media). The samples can be stored in the refrigerator (2-8°C/36-46.4°F) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year the specimen must be kept frozen at -20°C/-4°F. In this case, the sample will be totally thawed, and brought to room temperature before testing.

#### PROCEDURES

##### To process the collected stool samples (see illustration 1):

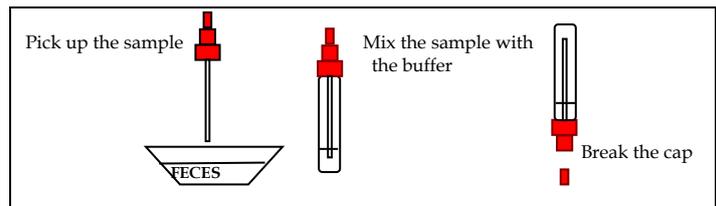
Use a separate specimen collection vial for each sample. Unscrew the cap of the vial and introduce the stick, only the part of the propeller and as vertical as possible, four times into the same faecal specimen to pick up quite a lot of sample. Close the vial with the buffer and stool sample. Shake the vial in order to assure good sample dispersion. For liquid stool samples, aspirate the faecal specimen with a dropper and add 125µL into the specimen collection vial with buffer.

##### Test Procedure (see illustration 2)

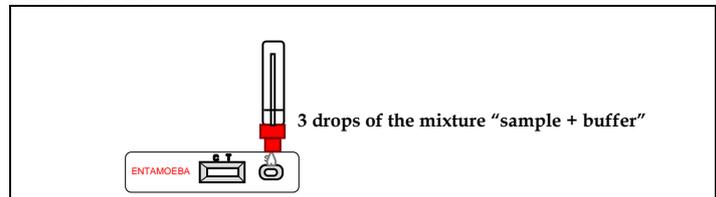
Allow the tests, stool samples and buffer to reach to room temperature (15-30°C/59-86°F) prior to testing. Do not open pouches until ready to perform the assay.

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

##### Illustration 1

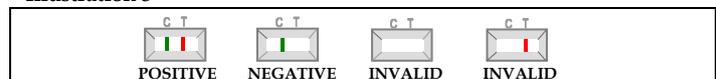


##### Illustration 2



#### INTERPRETATION OF RESULTS

##### Illustration 3



**POSITIVE:** Two lines appears across the central window. In the result line region, a **red** test line marked in the illustration 3 with the letter T, and in the control line region, a **green** control line marked in the illustration 3 with the letter C.

**NEGATIVE:** Only one **green** band appears across the control line region marked with the letter C at the illustration 3 (control line).

**INVALID:** A total absence of the **green** control coloured band regardless the appearance or not of the **red** test line. See illustration 3. Note: Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

#### NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

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

#### QUALITY CONTROL

Internal procedural controls are included in the test:  
- A green line appearing in the control line region (C). It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

#### LIMITATIONS

- Entamoeba MonlabTest® will only indicate the presence of parasites in the specimen (qualitative detection) and should be used for the detection of *Entamoeba* antigens in feces specimens only. Neither the quantitative value nor the rate of increase in antigen concentration can be determined by this test.
- An excess of sample could cause wrong results (brown lines appear). Dilute the sample with the 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 feces 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 *Entamoeba* infection. All results must be interpreted together with other clinical information and laboratory findings available to the physician.
- Mucous and/or bloody stool samples could cause non-specific reactions in the test. Mucous and/or bloody stool samples whose result is positive should be followed up with other techniques to confirm the result.

#### EXPECTED VALUES

*Entamoeba histolytica* infects more than 500 million people worldwide. Almost from the time of its discovery, it was observed 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 amebic colitis and amebic liver abscess. Dysenteric and diarrheic syndromes account for 90% of cases of invasive intestinal amoebiasis.

#### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

##### Sensitivity and specificity

It was studied some stool samples. The results showed using Entamoeba MonlabTest® compared with a commercial qPCR kit (Entamoeba histolytica Real Time Detection Kit, Entamoeba dispar Real Time Detection Kit) were:

		qPCR: Entamoeba histolytica Real Time Detection Kit			Entamoeba MonlabTest® vs Entamoeba histolytica Real Time Detection Kit		
		+	-	Total	Sens.		
<b>IC test:</b> Entamoeba MonlabTest®	+	4	1	5	80%	28.4 - 99.5%	
	-	1	107	108	99%	94.9 - 100.0%	
	Total	5	108	113	80%	28.4 - 99.5%	
					97%	94.9 - 100.0%	

		qPCR: Entamoeba dispar Real Time Detection Kit		
		+	-	Total
<b>IC test:</b> Entamoeba MonlabTest®	+	15	1	16
	-	6	107	113
	Total	21	108	129

		Entamoeba MonlabTest® vs Entamoeba dispar Real Time Detection Kit	
Sens.	71%	47.8 - 88.7%	
Spe.	99%	94.9 - 100.0%	
PPV	94%	69.8 - 99.8%	
NPV	95%	88.8 - 98.0%	

		qPCR: Entamoeba histolytica Real Time Detection kit and Entamoeba dispar Real Time Detection Kit		
		+	-	Total
<b>IC test:</b> Entamoeba MonlabTest®	+	19	2	21
	-	7	214	221
	Total	26	216	242

		Entamoeba MonlabTest® vs Entamoeba histolytica Real Time Detection Kit and Entamoeba dispar Real Time Detection Kit	
Sens.	73%	52.2 - 88.4%	
Spe.	99%	96.7 - 100.0%	
PPV	90%	69.6 - 98.8%	
NPV	97%	93.6 - 98.7%	

#### Cross-Reactivity

It was performed an evaluation to determine the cross reactivity of Entamoeba MonlabTest®. There is not cross reactivity with common gastrointestinal parasites occasionally present in feces.

- *Campylobacter coli/jejuni*
- *Clostridium difficile*
- *Cryptosporidium parvum*
- *Escherichia Coli O157:H7*
- *Shigella boydii/dysenteriae/flexneri/sonnei*
- *Giardia lamblia*
- *Helicobacter pylori*
- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella enteritidis/paratyphi/tyuphi/tyuphimurium*
- *Staphylococcus aureus*

#### REFERENCES

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

#### SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Don't re-use		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by



## Entamoeba MonlabTest®



MO-804021 20 TESTS

Test rápido para la detección de antígenos de *Entamoeba*

IVD

Test rápido para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica* y *dispar* en muestras de heces humanas.

Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.

### USO PREVISTO

Entamoeba MonlabTest® es un test rápido inmunocromatográfico para la detección cualitativa de antígenos de *Entamoeba histolytica* y *dispar* en muestras de heces humanas que sirve de ayuda en el diagnóstico de amebiasis.

### RESUMEN

La amebiasis es una infección del tracto humano gastrointestinal debida a *Entamoeba histolytica*, un protozoo parásito capaz de invadir la mucosa intestinal pudiendo extenderse a otros órganos, principalmente al hígado. *Entamoeba dispar*, es una ameba morfológicamente similar a *E. histolytica* que también coloniza el intestino humano, ha sido reconocido recientemente como una especie separada sin potencial invasor. La aceptación de *E. dispar* como una especie de protozoos distintos pero estrechamente relacionados, ha tenido profundas implicaciones en la epidemiología de amebiasis, ya que la mayoría de las infecciones asintomáticas encontradas en todo el mundo, ahora son atribuidas a esta ameba no invasiva.

La amebiasis invasiva debida a *E. histolytica* es más común en países desarrollados. En áreas de infección endémica, una variedad de condiciones incluyendo el desconocimiento, la pobreza, el hacinamiento, suministros de agua inadecuados y contaminados, y el saneamiento deficiente favorecen la transmisión fecal-oral directa de amebas de una persona a otra. Siendo responsable aproximadamente de 70 mil muertes anualmente, la amebiasis es la cuarta causa principal de muerte debido a una infección por protozoos después de la malaria, la enfermedad de Chagas, y leishmaniasis y la tercera causa de morbilidad en este grupo de organismos después de la malaria y la tricomoniasis, según estimaciones recientes de la Organización Mundial de la Salud.

Pacientes con disentería tienen una media de 3 a 5 evacuaciones mucosanguíneas por día, con moderado dolor cólico con anterior descarga, y tienen tenesmo rectal. En pacientes con diarrea con sangre, las evacuaciones también son pocas pero las heces están compuestas de materia fecal líquida machada de sangre. Mientras el dolor cólico sea moderado, no hay tenesmo rectal. La fiebre y las manifestaciones sistémicas están generalmente ausentes.

### PRINCIPIOS

Entamoeba MonlabTest® es un inmunoensayo cualitativo de flujo lateral para la detección de antígenos de *Entamoeba histolytica* y *dispar* en muestras de heces humanas. En la zona de la línea de test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a antígenos de *Entamoeba*. Durante el proceso, la muestra reacciona con partículas que presentan en su superficie anticuerpos anti-*Entamoeba*, formando un conjugado. La mezcla se mueve hacia la parte de arriba de la membrana por acción capilar. En el caso de que se dé un resultado positivo, los anticuerpos específicos presentes en la membrana reaccionarán con la mezcla de conjugado y aparecerán unas líneas coloreadas. Una línea verde siempre debe verse en la zona de la línea de control ya que sirve como verificación de que el volumen de muestra añadido es suficiente, que el flujo ha sido el adecuado y también como control interno de los reactivos.

### PRECAUCIONES

- Únicamente para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
- No utilizar tras la fecha de caducidad.
- El test debe estar en su envase sellado hasta el momento de usarlo.
- No utilizar el test si el envase se encuentra dañado.

- Cumplir con las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, no comer, ni beber o fumar en la zona de realización del ensayo.
- Todas las muestras deben ser consideradas como potencialmente peligrosas y manipuladas de la misma forma que si se tratase de un agente infeccioso.
- El test debería desecharse en un contenedor de residuos sanitarios tras su utilización.
- La prueba debería ser realizada durante las dos horas posteriores a la apertura del envase.
- La presencia de líneas amarillentas en la ventana de resultados (zona de líneas de control y test) que son visibles antes de utilizar el test son completamente normales. Estas líneas no significan fallo de funcionalidad del test.

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El test debe almacenarse en su envase sellado refrigerado o a temperatura ambiente (2-30°C/36-86°F). El test se conservará intacto hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No conviene congelar.

MATERIAL SUMINISTRADO	MATERIAL NECESARIO PERO NO PROPORCIONADO
- 20 Tests - Instrucciones de uso - 20 Viales de muestra con diluyente	- Envase para la toma de muestras - Guantes desechables - Cronómetro

### TOMA DE MUESTRA Y PREPARACIÓN

Tomar suficiente cantidad de muestra de heces (1-2g o mL para muestras líquidas). Las muestras de heces deberían ser almacenadas en un envase limpio y seco (sin conservantes o medios de transporte). Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-8°C/36-46.4°F) durante 1-2 días antes de usarse. Para una conservación más larga, máximo 1 año) deberían congelarse a -20°C/-4°F. En este caso, la muestra debe ser totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente antes de usarse.

### PROCEDIMIENTO

#### Para procesar la muestra de heces (ver dibujo 1):

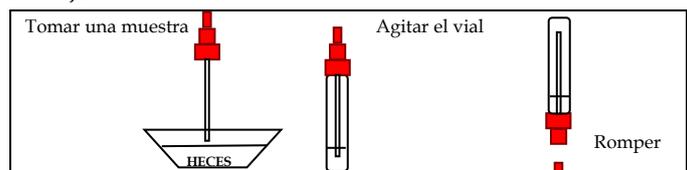
Utilice un vial para muestra de diluyente diferente para cada muestra. Desenrosque la parte de arriba del vial e introduzca el stick cuatro veces en la muestra de heces para tomar suficiente cantidad de muestra. Cierre el vial con el tampón y la muestra. Agítelo para asegurar una buena dispersión. Para muestras líquidas, utilice una pipeta y añada 125µL en el vial para muestra con diluyente.

#### Procedimiento (ver dibujo 2)

Antes de realizar la prueba los test, muestras y diluyente deben alcanzar temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F). No abrir el envase hasta el momento de realizar el ensayo.

1. Sacar Entamoeba MonlabTest® de su envase sellado y usarlo tan pronto como sea posible.
2. Agitar el vial con la muestra para asegurarse de una buena dispersión. Romper la parte de arriba del vial.
3. Usar un test diferente para cada muestra. Dispensar 3 gotas en el pocillo de muestra (S). Poner en marcha el cronómetro.
4. Leer el resultado a los **10 minutos** tras dispensar la muestra.

#### Dibujo 1



#### Dibujo 2



### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

#### Dibujos 3



POSITIVO NEGATIVO INVALIDO INVALIDO

**POSITIVO:** Dos líneas en la zona central de la ventana, en la zona de resultados, una línea **roja** llamada línea del test Entamoeba marcada con la letra T en el dibujo 3, y en la zona de control una línea **verde**, línea de control marcada con la letra C en el dibujo 3.

**NEGATIVO:** Únicamente una línea de color **verde** se verá en la zona de control marcada con la letra C (llamada línea de control).

**INVALIDO:** Ausencia total de la línea de control de color **verde**, a pesar de que aparezca o no la línea **roja** en la zona de resultados.

Nota: un volumen insuficiente de muestra, un procedimiento inadecuado o un deterioro de los reactivos podrían ser la causa de la no aparición de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo test. Si el problema persiste, deje de utilizar los tests y contacte con su distribuidor.

### NOTAS DE AYUDA EN LA INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La intensidad de la línea roja de la zona de resultados (T) variará dependiendo de la concentración de antígeno que se encuentre en la muestra. Sin embargo, esta prueba cualitativa no puede determinar ni la cantidad ni el incremento de antígenos presentes en las muestras.

### CONTROL DE CALIDAD

Existe un control interno del procedimiento incluido en el test:

- La línea verde que aparece en la zona de control (C). Esta línea confirma que el volumen añadido de muestra ha sido suficiente y que el procedimiento ha sido el adecuado.

### LIMITACIONES

- Entamoeba MonlabTest® indicará únicamente la presencia de antígenos de *Entamoeba* en la muestra de heces (detección cualitativa) y solamente debería usarse para este fin. No puede detectar ni la cantidad ni el aumento de concentración de antígenos en heces.
- Un exceso de muestra puede dar resultados erróneos (aparición de líneas marrones). Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- Si el resultado del test es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda utilizar otros métodos para la detección de estos parásitos. Un resultado negativo no puede descartar la posibilidad de amebiasis.
- Tras una semana de la infección, el número de parásitos en heces disminuye, haciendo la muestra menos reactiva. Las muestras de heces deberían recogerse durante la primera semana de aparición de los síntomas.
- Este test proporciona un diagnóstico presuntivo de amebiasis. Todos los resultados obtenidos deben ser interpretados conjuntamente con la información clínica y los hallazgos de laboratorio disponibles por un especialista.
- Muestras de heces mucosas y/o sanguinolentas podrían causar reacciones inespecíficas en el test. Muestras de heces mucosas y/o sanguinolentas cuyo resultado sea positivo debería confirmarse con otras técnicas.

### VALORES ESPERADOS

*Entamoeba histolytica* infecta a más de 500 millones de personas en todo el mundo. Casi desde su descubrimiento, se observó que aunque *E. histolytica* solía causar infecciones leves o asintomáticas, un 10% de los pacientes desarrollan una grave disentería y una enfermedad potencialmente mortal invasiva y extraintestinal.

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

Los síntomas de disentería y diarreicos representan 90% de los casos de amebiasis intestinal invasiva.

### CARACTERÍSTICAS DEL TEST

#### Sensibilidad y Especificidad

Se estudiaron algunas muestras de heces. Los resultados utilizando Entamoeba MonlabTest® en comparación con otros test qPCR comercializados (Entamoeba histolytica Real Time Detection Kit, Entamoeba dispar Real Time Detection Kit) fueron:

		qPCR: Entamoeba histolytica Real Time Detection Kit			Entamoeba MonlabTest® vs Entamoeba histolytica Real Time Detection Kit		
		+	-	Total	Sens.		
<b>IC test:</b> Entamoeba MonlabTest®	+	4	1	5	Esp.	99%	94.9 - 100.0%
	-	1	107	108	VPP	80%	28.4 - 99.5%
	Total	5	108	113	VPN	97%	94.9 - 100.0%
		qPCR: Entamoeba dispar Real Time Detection Kit			Entamoeba MonlabTest® vs Entamoeba dispar Real Time Detection Kit		
		+	-	Total	Sens.		
<b>IC test:</b> Entamoeba MonlabTest®	+	15	1	16	Esp.	99%	94.9 - 100.0%
	-	6	107	113	VPP	94%	69.8 - 99.8%
	Total	21	108	129	VPN	95%	88.8 - 98.0%
		qPCR: Entamoeba histolytica Real Time Detection Kit y Entamoeba dispar Real Time Detection Kit			Entamoeba MonlabTest® vs Entamoeba histolytica Real Time Detection Kit y Entamoeba dispar Real Time Detection Kit		
		+	-	Total	Sens.		
<b>IC test:</b> Entamoeba MonlabTest®	+	19	2	21	Esp.	99%	96.7 - 100.0%
	-	7	214	221	VPP	90%	69.6 - 98.8%
	Total	26	216	242	VPN	97%	93.6 - 98.7%

#### Reacciones cruzadas e interferencias

Se realizó una evaluación para determinar las reacciones cruzadas y las interferencias de Entamoeba MonlabTest®. No existen reacciones cruzadas con alguno de los posibles parásitos ocasionalmente presentes en las heces.

- *Campylobacter colif/jejuni*
- *Clostridium difficile*
- *Cryptosporidium parvum*
- *Escherichia Coli O157:H7*
- *Shigella boydii/dysenteriae/flexneri/sonnei*
- *Giardia lamblia*
- *Helicobacter pylori*
- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella enteritidis/paratyphi/tyuphi/tyuphimurium*
- *Staphylococcus aureus*

### BIBLIOGRAFÍA

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

### SIMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad