

ELI.H.A Aspergillus

Serodiagnostika aspergilózy nepřímou hemaglutinací

102 testy
(zn. 44602)



8000110-CS-2025-07
Pouze pro diagnostické použití *in vitro*, pouze pro profesionální použití.
Testy jsou určeny pro jednorázové použití.

1 - ÚČEL
ELI.HA Aspergillus umožňuje kvantitativní stanovení sérových protilátek proti *Aspergillus fumigatus* nepřímou hemaglutinací.
Sada umožňuje provést 102 testů nebo 17 reakcí ze 6 ředění.

2 - ÚVOD
Aspergillus fumigatus je druh nejčastěji inkriminovaný v lidské patologii. Má zvláštní schopnost přizpůsobit se parazitismu u lidí. Pro jeho rozvoj jsou nicméně nezbytné příznivé podmínky:
- lokální (předformované dutiny, detrusovaný plicní absces, změněná sliznice, ...)
- obecné (imunokompromitované pole související s těžkými lékařsko-chirurgickými technikami: štěpy, imunosupresiva, kortikosteroidy, antibiotika, ...)

3 - PRINCIP
ELI.HA Aspergillus je založen na principu nepřímé hemaglutinace. Citlivé červené krvinky sestávají z ovčích červenýchrvinek pokrytých antigenem *Aspergillus fumigatus*. Přítomnost specifických sérových protilátek vede k aglutinaci senzibilizovaných červenýchrvinek, což se projevuje červenohnědým závojem pokrývajícím vnitřek mísky. V nepřítomnosti specifických protilátek se tyto červené krvinky usazují na dně mísky ve formě kruhu. Nesenzenzibilizované červené krvinky zajišťují specifitu reakce a umožňují eliminovat interferenci způsobenou přirozeným aglutininem proti ovčím (Forssman heteroantibodies, infekční mononukleóзовé protilátkám, ...). Reakce se provádí na mikrotitrační destičce s dnem ve tvaru U. Manipulace je rychlá a jednoduchá. Výsledky jsou k dispozici za 2 hodiny.

4 - ČINIDLA A ZAŘÍZENÍ

Popis	Množství
R1 : lahvička s 2,2 mL senzibilovaných červenýchrvinek	1
R2 : lahvička s 1 mL nesenzenzibilizovaných červenýchrvinek	1
BUF : lahvička s 55 mL fosfátového pufru s pH 7,2	1
R3 : lahvička s 2 mL adsorbentu	1
CONTROL + : lahvička s 0,2 mL titrované pozitivní kontroly	1
CONTROL - : lahvička s 0,2 mL negativní kontroly	1
MICROPLATE : mikrotitrační destička s dnem ve tvaru U	2
DROPPER : speciální kapátko	2

5 - ZÁSADY BEZPEČNÉHO ZACHÁZENÍ
- Činidla jsou určena pouze pro diagnostiku *in vitro* a musí s nimi zacházet oprávněné osoby.
- Testy jsou určeny pouze pro jedno použití.
- Všechna činidla kromě činidla **BUF** obsahují látky živočišného původu a při manipulaci s nimi je nutné dodržovat zásady bezpečného zacházení.
- Vzorky jsou potenciálně infekční. Při manipulaci s nimi je nutné dodržovat zásady bezpečného zacházení, hygienická pravidla a předpisy platné v zemi použití.
- Reagencie obsahují azid sodný (koncentrace < 0.1%). Azid sodný obsažený v činidlech může reagovat s těžkými kovy v potrubí za vzniku výbušných sloučenin. Proto se doporučuje činidla nevhazovat do dřezu a dodržovat platná doporučení a předpisy pro likvidaci odpadu.
- Nepoužívejte činidla po uplynutí data použitelnosti.
- Nepoužívejte činidla pocházející z různých šarží.
- Počkejte, až se sérum a činidla vyrovnají při pokojové teplotě.
- Činidla **R1** a **R2** před použitím důkladně protřepejte.
- Při dávkování činidel **R1** a **R2** se ujistěte, že kapátko je dokonale vertikální. Zkontrolujte, zda v kapkách nejsou vzduchové bubliny, aby byly dodané objemy konstantní.

6 - SBĚR A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ
Používejte čerstvé nebo konzervované sérum při -20 °C bez hemolýzy zákalu nebo kontaminace. Vyhněte se opakovanému zmrazování a rozmrazování. Sérum nerozkládejte.

7 - UCHOVÁVÁNÍ A PŘÍPRAVA ČINIDEL
Činidla jsou připravena k použití.
Všechna činidla skladovaná při teplotě 2-8 °C jsou stabilní až do data použitelnosti uvedeného na krabici. Nezmrazujte.

8 - POTŘEBNÉ VYBAVENÍ, JEŽ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ
- Automatická(é) pipeta(y) s objemem pipety, odpovídajícím měřenému množství;
- Nádoby na kontaminovaný odpad;
- Odstředivka;
- trubice na hemolýzu.

9 - POSTUP
Činidla před použitím vyrovnejte na pokojovou teplotu.

9.1 - Příprava vzorku
Zkušební sérum se zředí na 1/40:
• 50 µL séra;
• 1,95 mL činidla **BUF**.

9.2 - Provedení testu na mikrotitrační destičce
- Pomocí vícekanalové mikropipety dávkujte 50 µL činidla **BUF** do 8 misek mikrotitrační destičky.

- Pomocí mikropipety dávkujte 50 µL zředěného séra do 1. mísky. Smíchejte s činidlem **BUF** a přeneste, nejlépe za použití mikrorozpouštědla ("tulip"), 50 µL z 1.^{éme} mísky do 2.^{éme}, z 2.^{éme} do 3.^{éme}, a tak dále až do 6.^{éme} mísky, a odstraňte 50 µL z 6. mísky. Získá se tak ředění 1/80 až 1/2560.

- 50 µL zředěného séra se dávkuje do 7. mísky. Smíchejte s činidlem **BUF** a přeneste, nejlépe za použití mikrorozpouštědla ("tulip"), 50 µL z 1.^{éme} mísky do 2.^{éme}, z 2.^{éme} do 3.^{éme}, a tak dále až do 6.^{éme} mísky, a odstraňte 50 µL z 6. mísky. Získá se tak ředění 1/80 až 1/2560.

- Toto ředění (1/80) je sérová kontrola, jejíž úlohou je detekovat přirodní aglutininy proti ovčím, které mohou být obsaženy v některých sérech.

- Důkladně protřepejte činidla **R1** a **R2**.

- Vložte 1 kapku činidla **R1** do prvních šesti misek.
- Vložte 1 kapku činidla **R2** do 7. mísky (sérová kontrola).
- Vložte 1 kapku činidla **R1** do 8. mísky (kontrola činidla), jejíž úlohou je ověřit platnost činidla **BUF** a činidla **R1**.

Poznámka: Proveďte pouze jednu kontrolu činidla na každou sérii testů.

- Velmi pečlivě homogenizujte obsah misek:

- buď ručně, poklepáváním ze strany na mikrotitrační destičku, položenou rovně;
- buď pomocí třepačkového míchadla pro mikrotitrační destičky (například 1300 otáček za minutu po dobu 10 sekund). Nepoužívejte orbitální třepačku.

- Destičku stále chraňte před vibracemi.

- odečtěte si reakci o 2 hodiny později.

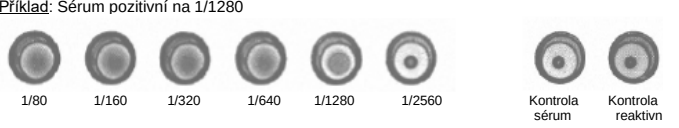
9.3 - Adsorpce přirodních aglutininů proti ovčím v případě aglutinace sérové kontroly
- Důkladně protřepejte činidlo **R3**.
- Nadávkujte do trubice a promíchejte:

- 0,1 mL séra;
- 0,3 mL činidla **R3**.

- Inkubujte 60 minut při pokojové teplotě.
- Odstředujte při 2000 ot/min po dobu 15 min.
- Supernatant se shromáždí; sérum se pak zředí 1/4.
- Supernatant je zředěn 1/10 v činidle **BUF** aby se dosáhlo adsorpce nadřazeného ředění (1/40).
- Opakujte protokol "Provedení testu na mikrotitrační destičce" nahrazením nadřazeného ředění adsorbovaným ředěním.

10 - ČTENÍ
Negativní reakce: Absence hemaglutinace. Přítomnost více či méně širokého prstence v dolní části šálku.

Pozitivní reakce: Přítomnost hemaglutinace. Přítomnost červenohnědého závoje pokrývajícího vnitřek mísky; občas je přítomna jemný okrajový proužek.



11 - VÝKLAD VÝSLEDKŮ
Titř < 1/320: Reakce není významná. Pravděpodobná absence hluboké aspergilózy. Opakujte test za 2 až 3 týdny později a též spojte s elektrosyntézou nebo imunoelektroforézou.

Titř = 1/320 : Pochybná reakce. Zopakujte test za 2 až 3 týdny a přidejte elektrosynerézu nebo imunoelektroforézu.

Titř ≥ 1/640 : Významná reakce ve prospěch hluboké aspergilózy.

12 - VNITŘNÍ KONTROLA KVALITY
S činidly **CONTROL +** a **CONTROL -** by mělo být zacházeno jako se séry, která mají být analyzována. Titř činidla **CONTROL +** musí odpovídat titru uvedenému na štítku lahvičky při ± jednom ředění. Činidlo **CONTROL -** musí být bez hemaglutinace. Pokud tomu tak není, test není platný.

13 - PŘÍČINY CHYB A LIMITY TESTOVÁNÍ
- Špatné uchovávání séra.
- Nesprávné uchovávání činidel po otevření.
- Používejte pouze kapátka dodaná jako součást sady.
- Nezaměňujte kapátka mezi činidly **R1** a **R2**.
- V případě pozitivní reakce v prvních šesti miskách pokračujte v ředění, abyste zjistili limitní hemaglutinační titr.
- Sérová kontrola by měla poskytnout negativní reakci (kroužek). V případě hemaglutinace této kontroly je nezbytné opakovat test po odstranění přirodních aglutininů proti ovčím ze séra adsorpcí.
- Reaktivní kontrola musí poskytnout negativní reakci (kroužek). V případě hemaglutinace této kontroly, činidlo **ELI.HA Aspergillus** nelze použít.
- Některé séra, jejichž koncentrace protilátek jsou velmi vysoká, mohou vyvolat zónový jev (se zasunutím závoje) do prvního ředění, který zmizí v následujících ředěních.
- Kvalita činidel umožňuje uskutečnit reakci večer a provést odečet následujícího rána za předpokladu, že mikrotitrační destičkou nebude pohybováno a že je chráněna před vibracemi.
- Ve všech případech a před stanovením konečné diagnózy musí být interpretace testu provedena integrací všech klinických, epidemiologických a biologických údajů a výsledků ostatních testů.

14 - VÝSLEDKY
ELI.HA Aspergillus se skládá z červenýchrvinek senzibilizovaných antigenem *Aspergillus fumigatus*, který zajišťuje citlivost a specifitu této nepřímé hemaglutinační reakce. Výsledky vyhodnocení testu tedy ukazují citlivost 80 % a specifitu 98 %.

15 - LIKVIDACE ODPADU
Odpad musí být zlikvidován v souladu s hygienickými pravidly a předpisy platnými pro tento typ výrobku v zemi použití.
V případě náhodného rozlití činidla **BUF**, vyčistěte pracovní plochu absorpčním papírem a opláchněte vodu. Pokud se rozlije sérum nebo jiné činidlo, vyčistěte dezinfekčním přípravkem a absorpčním papírem.

16 - ODKAZY

1. J. CAPDEVILLE, S. FIABANE - Diagnostic immunologique des aspergilloses - *Le Pharmacien Biologiste*, Tome XII, N° 121, 205-249.
2. B. PESSON, N. LEGER, G. MADULO-LEBLOND - Diagnostic immunologique en parasitologie et en mycologie - *Le Pharmacien Biologiste*, Tome XIII, N° 123, 417-455.
3. J.-M. SENET, C. BRISSET - The diagnosis of aspergillosis by passive haemagglutination - *Biomedicine*, 1973, 19, 365-368.
4. J.-M. SENET, R. ROBERT, E. PICHOT - Intérêt de l'hémagglutination indirecte dans le diagnostic précoce de l'aspergillose - *Bulletin de la Société de Mycologie Médicale*, 1974, Tome III, N° 1, 45-48.
5. J.-M. SENET, R. ROBERT - Intérêt de l'hémagglutination dans le diagnostic de maladies parasitaires. Application à la toxoplasmose et à l'aspergillose - *Archives Médicales de l'Ouest*, 1979, Tome 11, N° 1, 39-42.
6. A. CULINO, M. MIEGEVILLE, O. MORIN - Apports de l'hémagglutination indirecte dans le diagnostic de l'aspergillose pulmonaire - *Feuillets de Biologie*, 1984, Vol. XXV, N° 137, 51/57.
7. M. MIEGEVILLE, O. MORIN, C. VERMEIL - Etude sérologique rétrospective concernant une série d'aspergillose chez des malades à "hauts risques" - *Feuillets de Biologie*, 1986, Vol. XXVII, N° 148, 37-39.
8. M.-C. GBADAMASSI, C. CIVADIER, T. SANDRE, T.-H. DUONG, C. COMBESCOT - Diagnostic immunologique de l'aspergillose : Proposition de l'association de deux techniques facilement mises en œuvre au laboratoire - *Feuillets de Biologie*, 1989 , Vol. XXX, N° 169, 31-34.

Změny z předchozí verze jsou zvýrazněny šedě.



ELITech MICROBIO
Parc d'activités du Plateau
Allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
☎: 33 (0)4 94 88 55 00
http://www.elitechgroup.com