

# ELI.H.A Aspergillus

## Serodiagnose van aspergillose door indirecte hemagglutinatie

102 testen  
(Ref. 44602)

8000110-DU-2012-07

Alleen voor diagnostisch gebruik *in vitro*, alleen voor professioneel gebruik.  
Tests voor eenmalig gebruik.



### 1 - DOEL

ELI.H.A *Aspergillus* maakt de kwantitatieve bepaling mogelijk van serumantilichamen gericht tegen *Aspergillus fumigatus* door indirecte hemagglutinatie.  
Met de kit kunnen 102 testen of 17 reacties van 6 verdunningen worden uitgevoerd.

### 2 - INLEIDING

*Aspergillus fumigatus* is de soort die het vaakst in de menselijke pathologie verantwoordelijk wordt gesteld voor ziektes en infecties. Hij heeft een bijzonder vermogen om zich aan te passen aan parasitisme bij de mens. Gunstige voorwaarden voor de ontwikkeling ervan zijn echter noodzakelijk:  
- plaatselijk (voorgevormde holten, longabcessen, gewijzigd slijmvlies, etc.)  
- algemeen (zones van immunosuppressie gekoppeld aan zware medische en chirurgische technieken: transplantaten, immunosuppressiva, corticosteroiden, antibiotica, etc.).

### 3 - PRINCIPE

ELI.H.A *Aspergillus* is gebaseerd op het principe van indirecte hemagglutinatie. De gesensibiliseerde rode bloedcellen bestaan uit rode bloedcellen van schapen bedekt met een antigeen *Aspergillus fumigatus*.  
De aanwezigheid van specifieke serumantilichamen zorgt ervoor dat gesensibiliseerde rode bloedcellen samenklonteren, wat resulteert in een rood/bruine sluijer die de cupula bedekt. Bij gebrek aan specifieke antilichamen bezinken deze rode bloedcellen op de bodem van de cupula in de vorm van een ring.  
De niet-gesensibiliseerde rode bloedcellen zorgen voor de specificiteit van de reactie en maken de eliminatie mogelijk van de interferenties door natuurlijke antischaap-agglutinenen (Forssmans hetero-antilichamen, antilichamen van infectieuze mononucleose, etc.).  
De reactie vindt plaats in een U-vormige microtiterplaat.  
De hantering is snel en eenvoudig. Resultaten worden verkregen in 2 uur.

### 4 - REAGENTIA EN MATERIAAL

Beschrijving	Aantal
<b>R1:</b> flacon van 2,2 mL met gesensibiliseerde rode bloedcellen	1
<b>R2:</b> flacon van 1 mL met niet-gesensibiliseerde rode bloedcellen	1
<b>BUF:</b> flacon van 55 mL fosfaatbuffer pH 7,2	1
<b>R3:</b> flacon van 2 mL adsorbens	1
<b>CONTROL +:</b> flacon van 0,2 mL van getitreeerde positieve controle	1
<b>CONTROL -:</b> flacon van 0,2 mL van negatieve controle.	1
<b>MICROPLATE:</b> U-vormige microtiterplaat	2
<b>DROPPER:</b> speciale druppelaar	2

### 5 - VOORZORGEN BIJ GEBRUIK

- Reagentia zijn alleen bedoeld voor *in-vitro*-diagnose en dienen door geautoriseerd personeel te worden gehanteerd.
- De testen zijn voor eenmalig gebruik.
- Alle reagentia, behalve het reagens **BUF**, bevatten stoffen van dierlijke oorsprong en dienen voorzichtig te worden gehanteerd.
- De monstermengingen zijn potentieel besmettelijk. Ze moeten worden gehanteerd met de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen en met inachtneming van de in het land van gebruik geldende hygiënevoorschriften.
- **CONTROL**-flacons bevatten natriumazide (< 0,1%).
- Gebruik reagentia niet langer dan de vervaldatum.
- Gebruik geen reagentia uit verschillende batches.
- Wacht tot het serum en de reagentia op kamertemperatuur komen.
- Schud de reagentia **R1** en **R2** voorzichtig vóór gebruik.
- Bij het toedienen van reagentia **R1** en **R2** moet ervoor worden gezorgd dat de druppelaar perfect verticaal staat. Controleer of er geen luchtballen in de druppels zitten, zodat de geleverde volumes constant zijn.

### 6 - VERZAMELING EN VERWERKING VAN MONSTERS

Gebruik verse serums of serums die bij -20 °C bewaard worden en die geen troebele hemolyse of verontreiniging vertonen.  
Voorkom herhaaldelijk invriezen en ontdooien.  
Het serum nooit decomplexeren.

### 7 - OPSLAG EN BEREIDING VAN REAGENTIA

De reagentia zijn klaar voor gebruik.  
Alle reagentia die bij 2-8 °C worden bewaard, zijn stabiel tot de op de verpakking vermelde uiterste gebruiksdatum. Zij mogen niet worden bevroren.

### 8 - BENODIGD, MAAR NIET MEEGELEVERD MATERIAAL

- Automatische pipet(ten) met een aan de te meten hoeveelheid aangepast pipeteringsvolume;
- Containers voor verontreinigd afvalmateriaal;
- een centrifuge;
- Hemolysebuisjes.

### 9 - WERKWIJZE

Laat reagentia vóór gebruik op kamertemperatuur komen.

#### 9.1 - Voorbereiding van het monster

Verdun het te testen serum tot 1/40:  
• 50 µL serum;  
• 1,95 mL van reagens **BUF**.

#### 9.2 - Uitvoering van de test op microtiterplaat

- Breng met behulp van een meerkanale micropipet 50 µL reagens **BUF** in 8 putjes van de microtiterplaat.

- Breng met behulp van een micropipet 50 µL van het verdunde serum in het 1<sup>e</sup> putje.

Meng met het reagens **BUF** en breng, bij voorkeur met behulp van een microverdunner ("tulp"), 50 µL van het 1<sup>e</sup> putje in het 2<sup>e</sup> putje, van het 2<sup>e</sup> putje in het 3<sup>e</sup>, en ga zo maar door tot het 6<sup>e</sup> putje, waarbij 50 µL van het 6<sup>e</sup> putje wordt weggegooid.  
Dat resulteert in verdunningen van 1/80 tot 1/2560.

- Breng 50 µL van het verdunde serum over in het 7<sup>e</sup> putje.

Meng met het reagens **BUF** en gooi 50 µL weg.

Deze verdunning (1/80) vormt de serumcontrole die tot taak heeft de natuurlijke antischaapagglutinenen die bepaalde serums kunnen bevatten, op te sporen.

- Schud de reagentia **R1** en **R2** voorzichtig.

- Breng 1 druppel reagens **R1** in de eerste 6 putjes.
- Plaats 1 druppel reagens **R2** in het 7<sup>e</sup> putje (serumcontrole).
- Breng 1 druppel reagens **R1** in het 8<sup>e</sup> putje (reagentiacontrole) die tot taak heeft de validiteit van het reagens **BUF** en het reagens **R1** te controleren.

Opmerking: voer slechts één reagentiacontrole uit per testreeks.

- Homogeniseer de inhoud van de putjes zeer zorgvuldig:

- ofwel met de hand, door te tikken op de zijanten van de plat gepositioneerde microtiterplaat;
  - ofwel door middel van een trilroerder voor microtiterplaten (bijvoorbeeld 1300 omw/min gedurende 10 seconden). Gebruik geen ronde roerder.
- Laat de plaat vervolgens onbeweeglijk en volledig trillingsvrij liggen.

- Lees de reactie 2 uur later.

#### 9.3 - Adsorptie van natuurlijke antischaapagglutinenen in geval van agglutinatie van de serumcontrole

- Schud het reagens **R3** voorzichtig.
- Plaats het in een buisje en meng het:
  - 0,1 mL serum;
  - 0,3 mL reagens **R3**.
- Laat 60 min incuberen bij kamertemperatuur.
- Centrifugeer bij 2000 omw/min gedurende 15 min.
- Verzamel het supernatant; het serum wordt vervolgens verdund tot 1/4.
- Verdun het supernatant tot 1/10 in reagens **BUF** om een geadsorbeerde moederverdunning (1/40) te verkrijgen.
- Herhaal het protocol van "Uitvoering van de test op microtiterplaat" en vervang de moederverdunning door de geadsorbeerde moederverdunning.

### 10 - AFLEZING

#### Negatieve reactie:

#### Afwezigheid van hemagglutinatie.

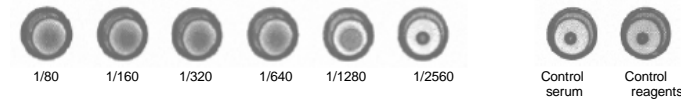
Aanwezigheid van een min of meer brede ring aan de onderkant van het putje.

#### Positieve reactie:

#### Aanwezigheid van hemagglutinatie.

Aanwezigheid van een rode/bruine sluijer die het putje bedekt; aanwezigheid van een dunne perifere strook.

Voorbeeld: serum positief op 1/1280



### 11 - INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

Titer < 1/320:

#### Niet-aanzienlijke reactie.

Waarschijnlijke afwezigheid van diepe aspergillose.  
Herhaal de test 2 tot 3 weken later en gebruik een elektrolyse van immuno-elektroforese.

Titer = 1/320:

#### Onbetrouwbare reactie.

Herhaal de test 2 tot 3 weken later en gebruik elektrolyse van een immuno-elektroforese.

Titer ≥ 1/640:

#### Aanzienlijke reactie ten voordele van diepe aspergillose.

### 12 - INTERNE KWALITEITSCONTROLE

De reagentia **CONTROL+** en **CONTROL-** moeten tijdens de analyse als serums worden behandeld. De titer van het reagens **CONTROL+** moet gelijk zijn aan de titer vermeld op het etiket van de flacon bij ± een verdunning. Het reagens **CONTROL-** moet een afwezigheid van hemagglutinatie vertonen. Als dat niet het geval is, is de test niet geldig.

### 13 - OORZAKEN VAN FOUTEN EN BEPERKINGEN VAN DE TEST

- Slechte opslag van het serum.
- Slechte opslag van reagentia na opening.
- Gebruik alleen de meegeleverde druppelaars in de kit.
- Wissel de druppelaars niet uit tussen de reagentia **R1** en **R2**.
- Bij een positieve reactie in de eerste 6 putjes, dient u verder te gaan met de verdunningen om te zoeken naar de limiethemagglutinatie-titer.
- De serumcontrole moet een negatieve reactie geven (ring). In geval van hemagglutinatie van deze controle moet de test worden herhaald nadat de natuurlijke antischaapagglutinenen door adsorptie uit het serum zijn verwijderd.
- De reagentiacontrole moet een negatieve reactie geven (ring). In geval van hemagglutinatie van deze controle, is het reagens **ELI.H.A Aspergillus** niet bruikbaar.
- Sommige serums, waarvan de concentratie van antilichamen zeer hoog is, kunnen bij de eerste verdunningen een zofenomeen (met retractive van de sluijer) veroorzaken, dat bij de volgende verdunningen verdwijnt.
- De kwaliteit van de reagentia maakt het mogelijk om de reactie 's avonds uit te voeren en de aflezing de volgende ochtend, op voorwaarde dat de microtiterplaat niet wordt verplaatst en tegen trillingen wordt beschermd.
- In alle gevallen, en voordat de definitieve diagnose wordt gesteld, moet de interpretatie van de test worden gerealiseerd met de integratie van alle klinische, epidemiologische en biologische gegevens en de resultaten van andere tests.

### 14 - PRESTATIES

ELI.H.A *Aspergillus* bestaat uit rode bloedcellen, gesensibiliseerd door een zeer gezuiverd antigeen *Aspergillus fumigatus* die gevoeligheid en specificiteit voor deze reactie van indirecte hemagglutinatie garandeert.  
Zo tonen de resultaten van de testevaluaties een gevoeligheid van 80 % en een specificiteit van 98 %.

### 15 - AFVALVERWIJDERING

Afval dient te worden afgevoerd in overeenstemming met de in het land van gebruik voor dit type product geldende hygiënevoorschriften en wetgeving.  
In geval van accidenteel morsen van reagens **BUF**: het werkkoppervlak reinigen met absorberend papier en spoelen met water. Als er serum of een ander reagens gemorst wordt: reinigen met bleekmiddel en absorberend papier.

### 16 - BIBLIOGRAFIE

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 toxoplasmosé 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 oeuvre au laboratoire - *Feuillets de Biologie*, 1989, Vol. XXX, N° 169, 31-34.

De wijzigingen ten opzichte van de vorige versie zijn grijs gemarkeerd.

### ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau  
allée d'Athènes  
83870 SIGNES  
FRANCE

☎: 33 (0)4 94 88 55 00

Fax.: 33 (0)4 94 32 82 61

http://www.elitechgroup.com

