

ELI.H.A Aspergillus

Sierodiagnostica dell'aspergillosi tramite emoagglutinazione indiretta

102 Tests
(Ref. 44602)

8000110-IT-2025-07

Per uso diagnostico *in vitro*, solo per uso professionale.
Test monouso.



1 - SCOPO

ELI.H.A Aspergillus consente la determinazione di quantitativa degli anticorpi anti-Aspergillus fumigatus in campioni di siero tramite emoagglutinazione indiretta.
Il kit consente di eseguire 102 test o 17 reazioni di 6 diluizioni.

2 - INTRODUZIONE

Aspergillus fumigatus è la specie più frequentemente incriminata nella patologia umana. Lei ha una capacità speciale di adattarsi al parassitosismo negli esseri umani.

Tuttavia, sono necessarie condizioni favorevoli per il suo sviluppo:

- locale (cavità preformate, ascessi polmonari detergenti, mucosa alterata, ecc.)
- generale (settore immunocompromesso legato a tecniche mediche e chirurgiche pesanti: innesti, immunosoppressori, corticosteroidi, antibiotici, ecc.)

3 - PRINCIPIO

ELI.H.A Aspergillus si basa su emoagglutinazione indiretta. Eritrociti sensibilizzati sono composti di eritrociti di pecora rivestiti con un antigene *Aspergillus fumigatus*.

La presenza degli anticorpi specifici in campioni di siero è revelata da un'agglutinazione dei eritrociti sensibilizzati: una pellicola rossiccia-marrone nel pozzo. In assenza degli anticorpi specifici, questi eritrociti si depositano e formano un anello sul fondo del pozzetto.

Eritrociti non sensibilizzati, assicura la specificità della reazione e permette l'eliminazione di interferenze dovute alle agglutinine anti-pecora naturali (eteroanticorpi di Forssman, anticorpi della mononucleosi infettiva...).

La reazione viene effettuata in micropiastre a U.

L'esecuzione del test è semplice e rapida. I risultati si ottengono in 2 ore.

4 - CONTENUTO DE LA CONFEZIONE

Descrizione	Quantità
R1: Fiala di 2,2 mL dei eritrociti sensibilizzati	1
R2: Fiala di 1 mL dei eritrociti non sensibilizzati	1
BUF: Fiala di 55 mL di soluzione tampone fosfato pH 7,2	1
R3: Fiala di 2 mL di sostanza	1
CONTROL +: Fiala di 0,2 mL di controllo positivo titolato	1
CONTROL -: Fiala di 0,2 mL di controllo negativo	1
MICROPLATE: Micropiastre a U	2
DROPPER: Contagocce speciali	2

5 - AVVERTIMENTI E PRECAUZIONI

- Solo per uso diagnostico *in vitro*, solo per uso professionale.
- I test sono intesi per uso singolo.
- Tutti i reagenti, eccetto di reagente **BUF**, contengono materiale di origine animale. Conseguentemente, devono essere manipolati come componenti pericolosi.
- I campioni sono potenzialmente infettivi. Devono essere maneggiati con le consuete precauzioni, nel rispetto delle norme igieniche e le normative vigenti nel paese di utilizzo.
- I reagenti contengono azide di sodio (concentrazione < 0,1%). Il azide di sodio contenuto nei reagenti può reagire con i metalli pesanti presenti nelle tubature formando composti esplosivi. Si raccomanda pertanto di non smaltire i reagenti nel lavandino e di seguire le raccomandazioni e le normative vigenti per lo smaltimento dei rifiuti.
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.
- Non scambiare reagenti e controlli provenienti da lotti diversi.
- Lasciare tornare a temperatura ambiente i reagenti e i campioni prima di effettuare il test.
- Agitare con cautela i reagenti **R1** e **R2** prima dell'uso.
- Quando si versano i reagenti **R1** e **R2**, accertarsi che l'ago del contagocce sia perfettamente verticale. Verificare che non vi siano bolle d'aria nelle gocce per assicurare volumi di erogazione costanti.

6 - PRELIEVO/PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Utilizzare sieri freschi o sieri conservati a -20°C. Non usare siero emolizzato, torbido o contaminato.
Evitare il congelamento e lo scongelamento ripetuti.
Non decomplicare il siero.

7 - MODALITÀ DI CONSERVAZIONE

I reagenti sono pronti per l'uso. Conservare a +2°...+8°C, fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Non congelare.

8 - MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

- Pipetta/e automatica/e con volume di pipettaggio adattato alla quantità da misurare
- Contenitore per rifiuti contaminati
- Centrifuga
- Tubi per emolisi

9 - ESECUZIONE DEL TEST

Prima dell'uso, lasciare che i reagenti e i campioni tornino a temperatura ambiente.

9.1 - Preparazione di diluizione stock 1/40 di siero test

Diluire il siero da testare a 1/40:

- 50 µL di siero;
- 1,95 mL di reagente **BUF**.

9.2 - Esecuzione del test su micropiastre

- Tramite una micropipetta multicanale, versare 50 µL di reagente **BUF** in 8 pozzetti della micropiastre.
- Tramite una micropipetta, aggiungere 50 µL di diluizione stock di siero nel primo pozzetto. Mescolare con il reagente **BUF** e trasferire, preferibilmente tramite un microdiluitore, 50 µL dal primo pozzetto nel secondo pozzetto, dal secondo pozzetto al terzo, e così via fino al sesto pozzetto. Scartare 50 µL dal sesto pozzetto. Otteniamo così le diluizioni da 1/80 fino a 1/2560.
- Aggiungere 50 µL di diluizione stock di siero nell'settimo pozzetto. Miscelare con il reagente **BUF** e scartare 50 µL. Questa diluizione 1/80 costituisce il controllo del siero e serve per il rilevamento di agglutinine anti-pecora naturali, che possono verificarsi in alcuni sieri.
- Agitare con cautela le reagente **R1** e **R2**.
 - Distribuire una goccia di reagente **R1** nei primi sei pozzetti.
 - Distribuire una goccia di reagente **R2** nella settima pozzetto (controllo del siero).
 - Distribuire una goccia di reagente **R1** in otava pozzetto (controllo del reagente). La sua funzione è quella di controllare la validità del reagente **BUF** e del reagente **R1**.

Note: Predisporre solo un controllo del reagente per serie di saggi.

- Con molta cautela, omogeneizzare il contenuto dei pozzetti:
 - Manualmente, dando leggeri colpi ai lati della micropiastre, posizionata di piatto
 - O con un vibratore-agitatore per micropiastre (ad esempio 1300 giri/min per 10 secondi). Non utilizzare agitatore orbitale.
- Poi lasciare ferma la piastra, lontano da vibrazioni.
- Leggere la reazione due ore dopo.

9.3 - Assorbimento delle agglutinine anti-pecora naturali in caso di agglutinazione del controllo del siero

- Agitare con cautela il reagente **R3**.
- Introdurre in un tubo e mescolare:
 - 0,1 mL di siero test ;
 - 0,3 mL di reagente **R3**.
- Incubare per 60 min a temperatura ambiente.
- Centrifugare a 2000 giri/min per 15 min.
- Raccogliere il fluido supernatante ; il siero quindi è diluito 1/4.
- Diluire il fluido supernatante 1/10 con il reagente **BUF** per ottenere una soluzione stock adsorbita (1/40).
- Seguire il protocollo di "Esecuzione del test su micropiastre" sostituendo la diluizione stock con la soluzione stock adsorbita.

10 - LETTURA DEI RISULTATI

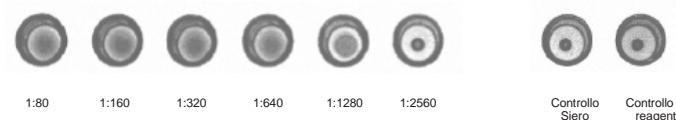
Reazione negativa: **No emoagglutinazione**

Presenza di sul fondo del pozzetto, un anello più o meno ampia

Reazione positiva: **Emoagglutinazione**

Presenza di una pellicola rossiccia-marrone nel pozzetto : talvolta, la presenza di un anello periferico sottile

Esempio: siero positivo a 1/1280



11 - INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Titolo < 1:320:

Reazione non significativa

Probabile assenza di aspergilloosi profonda.

Ripetere la prova di 2 o 3 settimane più tardi e associare una electrosyneresis o un immunoelletroforesi.

Titolo = 1:320:

Reazione equivoco.

Ripetere la prova di 2 o 3 settimane più tardi e associare una electrosyneresis o un immunoelletroforesi.

Titolo ≥ 1:640:

Reazione significativa a favore di una aspergilloosi profonda.

12 - CONTROLLO DELLA QUALITÀ INTERNO

Ogni kit include **CONTROL -** e **CONTROL +** titolati, pronti all'uso e da eseguire come i campioni. Questi controlli convalidano il test. Il titolo del **CONTROL +** deve essere pari a ± una diluizione rispetto a quella indicata sull'etichetta della fiala. Non deve essere riscontrata emoagglutinazione con il **CONTROL -**. Altrimenti il test non è valido.

13 - CAUSE DI ERRORE E LIMITAZIONI DEL TEST

- Cattiva conservazione del siero.
- Cattiva conservazione dei reagenti dopo l'apertura.
- Utilizzare esclusivamente i contagocce forniti nel kit.
- Non scambiare i contagocce tra reagenti **R1** e **R2**.
- In caso di reazione positiva nei primi sei pozzetti, effettuare diluizioni più elevate per determinare il titolo di emoagglutinazione limite.
- Il controllo del siero deve dare una reazione negativa (anello). In caso di emoagglutinazione di questo controllo, è necessario ripetere il test dopo l'eliminazione delle agglutinine anti-pecora naturali tramite assorbimento.
- Il controllo del reagente deve dare una reazione negativa (anello). In caso di emoagglutinazione di questo controllo, il reagente **ELI.H.A Aspergillus** non potrebbe essere usato.
- Alcuni sieri, con un titolo anticorpale molto elevato, possono causare un fenomeno di zona (con retrazione della pellicola) alle prime diluizioni, che scompare con diluizioni crescenti.
- La qualità dei reagenti permette l'effettuazione della reazione di sera, con lettura la mattina successiva, purché la micropiastre rimanga immobile e protetta da vibrazioni.
- In qualsiasi caso, la diagnosi dovrebbe essere avanzata usando i risultati di questo test insieme agli altri riscontri clinici, epidemiologici e di laboratorio.

14 - PRESTAZIONI DEL KIT

ELI.H.A Aspergillus è composto dei eritrociti sensibilizzati da un antigene *Aspergillus fumigatus*, che assicura sensibilità e specificità per la reazione di emoagglutinazione indiretta.

Quindi, i risultati delle valutazioni di **ELI.H.A Aspergillus** mostrano una sensibilità del 80 % e una specificità del 98 %.

15 - SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

I campioni, i reagenti e i materiali e i prodotti contaminati devono essere smaltiti in un contenitore apposito per i rifiuti contaminati, in conformità alle raccomandazioni e norme vigenti per questa tipologia di prodotto nel paese di utilizzo.

In caso di versamento accidentale di reagente **BUF**, pulire la superficie con carta assorbente e acqua. In caso di versamento di siero o di un altro reagente, pulire la superficie con carta assorbente, acqua e candeggina.

16 - REFERENZE

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 toxoplasmosi e à l'aspergillose - *Archives Médicales de l'Ouest*, 1979, Tome 11, N° 1, 39-42.
6. A. CULINO, M. MIEGEVILLE, O. MORIN - Apport de l'hémagglutination indirecte dans le diagnostic de l'aspergillose pulmonaire - *Feuilles de Biologie*, 1984, Vol. XXV, N°137, 51/57.
7. M. MIEGEVILLE, O. MORIN, C. VERMEIL - Étude sérologique rétrospective concernant une série d'aspergillose chez des malades à "hauts risques" - *Feuilles de Biologie*, 1986, Vol. XXVII, N°148, 37-39.
8. M.-C. GBADAMASSI, C. CIVADIER, T.-H. DUONG, C. COMBESCAT - Diagnostic immunologique de l'aspergillose : Proposition de l'association de deux techniques facilement mises en œuvre au laboratoire - *Feuilles de Biologie*, 1989, Vol. XXX, N°169, 31-34.

I cambiamenti rispetto alla versione precedente sono evidenziati in grigio.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau

Allée d'Athènes

83870 SIGNES

FRANCE

tel: 33 (0)4 94 88 55 00

<http://www.elitechgroup.com>