

ELI.H.A Schistosoma

Serodiagnose der Bilharziose durch indirekte Hämagglutination

120 Tests

(Artnr. 66600)

8000120-DE-2025-07
Für *in-vitro*-Diagnostik, für den professionellen Einsatz.
Einmaltest.



1 - ZIEL
ELI.H.A Schistosoma ermöglicht durch indirekte Hämagglutination die quantitative Bestimmung von Serumantikörpern von Bilharziose-Patienten bei *Schistosoma mansoni* (Lokalisation im Darm) und bei *Schistosoma haematobium* (Lokalisation im Urin).
Mit dem Kit können 120 Tests oder 20 Reaktionen mit 6 Verdünnungen durchgeführt werden.

2. EINLEITUNG
Bilharziose oder Schistosomiasis ist eine Gruppe parasitärer Erkrankungen, die durch nicht segmentierte Plattwürmer der Gattung *Schistosoma* verursacht werden.
Erwachsene Würmer induzieren das fortschreitende Auftreten von Immunität. Die Eier sind der Erreger der Krankheit. Die Krankheit tritt in drei aufeinander folgenden Stadien auf: Kontamination - Invasion - Zustand.
Die Diagnose einer Bilharziose kann durch den Nachweis von Eiern bestätigt werden, diese können jedoch nicht vor der „Zustands“-Phase nachgewiesen werden. Die parasitäre immunologische Diagnose ist daher zu Beginn der Krankheit unerlässlich.

3 - PRINZIP
ELI.H.A Schistosoma basiert auf dem Prinzip der indirekten Hämagglutination. Die sensibilisierten roten Blutkörperchen bestehen aus roten Blutkörperchen von Schafen, die mit einem Antigen *Schistosoma mansoni* *beschichtet sind*. Das Vorhandensein von spezifischen Serumantikörpern bewirkt, dass sensibilisierte rote Blutkörperchen zusammenklumpen, was zu einem roten/braunen Schleier führt, der die Vertiefung bedeckt. In Abwesenheit spezifischer Antikörper setzen sich diese roten Blutkörperchen in Form eines Rings am Boden der Vertiefung ab. Die nicht sensibilisierten roten Blutkörperchen liefern die Spezifität der Reaktion und ermöglichen die Beseitigung der Interferenzen durch natürliche Anti-Schaf-Agglutinine (Forssman-Hetero-Antikörper, Antikörper gegen infektiöse Mononukleose usw.).
Die Reaktion findet in einer U-förmigen Mikrotiterplatte statt.
Die Handhabung ist schnell und einfach. Die Ergebnisse werden in nur 2 Stunden erhalten.

4 - REAGENZIEN UND MATERIAL	
Beschreibung	Anzahl
R1: 2,4-ml-Durchstechflasche mit sensibilisierten roten Blutkörperchen	1
R2: 1-ml-Durchstechflasche mit nicht-sensibilisierten roten Blutkörperchen	1
BUF: 55-ml-Durchstechflasche mit Pufferpuffer, pH 7,2	1
R3: 2-ml-Durchstechflasche mit Adsorbens	1
CONTROL+: 0,2-ml-Durchstechflasche mit titrierter Positivkontrolle	1
CONTROL -: 0,2-ml-Durchstechflasche mit Negativkontrolle.	1
MICROPLATE: U-förmige Mikrotiterplatte	2
DROPPER: spezieller Tropfer	2

5 - VORSICHTSMASSNAHMEN BEI DER ANWENDUNG

- Reagenzien sind nur zur *in vitro*-Diagnose bestimmt und sollten von autorisiertem Personal behandelt werden. Die Tests sind für den einmaligen Gebrauch bestimmt.
- Alle Reagenzien außer dem Reagenz **BUF**, enthalten Substanzen tierischen Ursprungs und sollten mit Vorsicht behandelt werden.
- Die Proben sind möglicherweise ansteckend. Sie müssen mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und in Übereinstimmung mit den Hygienevorschriften des Verwendungslandes behandelt werden.
- Die Reagenzien enthalten Natriumazid (Konzentration < 0.1%). Das in den Reagenzien enthaltene Natriumazid kann mit den Schwermetallen in den Leitungen reagieren und explosive Verbindungen bilden. Es wird daher empfohlen, die Reagenzien nicht in den Abfluss zu schütten und die geltenden Empfehlungen und Vorschriften zur Abfallentsorgung zu beachten.
- Verwenden Sie keine Reagenzien nach dem Verfallsdatum.
- Verwenden Sie keine Reagenzien aus verschiedenen Chargen.
- Warten Sie, bis das Serum und die Reagenzien Raumtemperatur erreicht haben.
- Schütteln Sie die Reagenzien **R1** und **R2** vor Gebrauch vorsichtig.
- Bei der Verabreichung von Reagenzien **R1** und **R2** muss vorab sichergestellt sein, dass der Tropfer perfekt senkrecht steht. Stellen Sie sicher, dass sich keine Luftblasen in den Tröpfchen befinden, damit die abgegebenen Mengen konstant sind.

6 - SAMMLUNG UND VERARBEITUNG VON PROBEN
Verwenden Sie frische Seren oder Seren, die bei -20 ° C gelagert wurden und keine trübe Hämolyse oder Kontamination aufweisen.

Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
Teilen Sie das Serum niemals in seine einzelnen Bestandteile.

7 - LAGERUNG UND ZUBEREITUNG VON REAGENZIEN
Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.
Alle bei 2-8 ° C gelagerten Reagenzien sind bis zum auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum stabil. Sie dürfen nicht eingefroren werden.

8 - ERFORDERLICHES, ABER NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIAL

- Automatische Pipette(n) mit einem an die zu messende Menge angepassten Pipettivolumen;
- Behälter für kontaminiertes Abfallmaterial;
- Zentrifuge;
- Hämolyseröhren.

9 - VORGEHENSWEISE
Lassen Sie die Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur kommen.

9.1 - Vorbereitung der Probe
Verdünnen Sie das zu testende Serum auf 1/40:

- 50 µl Serum;
- 1,95 ml Reagenz **BUF**.

9.2 - Durchführung des Tests auf einer Mikrotiterplatte

- Übertragen Sie mit einer Mehrkanal-Mikropipette 50 µl Reagenz **BUF** in 8 Vertiefungen der Mikrotiterplatte.
- Übertragen Sie mit einer Mikropipette 50 µl des verdünnten Serums in die erste Vertiefung. Mit dem Reagenz **BUF** mischen und vorzugsweise mit Hilfe eines „tulpenförmigen“ Mikroverdünners 50 µl der ersten Vertiefung in die zweite Vertiefung, von der zweiten Vertiefung in die dritte Vertiefung und so weiter bis zur sechsten Vertiefung übertragen, wobei 50 µl der sechsten Vertiefung weggeworfen werden. Dies führt zu Verdünnungen von 1/80 bis 1/2560.

- Übertragen Sie 50 µl des verdünnten Serums auf die siebte Vertiefung. Mit dem Reagenz **BUF** mischen und 50 µl wegwerfen.
Diese Verdünnung (1/80) stellt die Serumkontrolle dar, deren Aufgabe es ist, die natürlichen Anti-Schaf-Agglutinine nachzuweisen, die bestimmte Seren enthalten können.

- Schütteln Sie die Reagenzien **R1** und **R2** vorsichtig.
 - Übertragen Sie einen Tropfen des Reagenz **R1** in die ersten 6 Vertiefungen.
 - Übertragen Sie einen Tropfen des Reagenz **R2** in die siebte Vertiefung (Serumkontrolle).
 - Übertragen Sie 1 Tropfen des Reagenz **R1** in die achte Vertiefung (Reagenzienkontrolle) zur Überprüfung der Gültigkeit des Puffers und der sensibilisierten roten Blutkörperchen.

Hinweis: Führen Sie nur eine Reagenzienkontrolle pro Testreihe durch.

- Homogenisieren Sie den Inhalt der Vertiefungen sehr sorgfältig:
 - entweder von Hand durch Antippen der Seiten der flach positionierten Mikrotiterplatte;
 - oder mittels eines Mikrotiterplatten-Vibrationsrührers (zum Beispiel 1300 U/min für eine Dauer von 10 Sekunden). Verwenden Sie keinen runden Rührer.
- Lassen Sie die Platte dann bewegungslos und völlig vibrationsfrei liegen.
- Lesen Sie die Reaktion 2 Stunden später ab.

9.3 - Adsorption natürlicher Anti-Schaf-Agglutinine bei Agglutination der Serumkontrolle

- Schütteln Sie das Reagenz **R3** vorsichtig.
- Geben Sie es in ein Röhrchen und mischen Sie es mit:
 - 0,1 ml Serum;
 - 0,3 ml Reagenz **R3**.
- Lassen Sie es 60 min lang bei Raumtemperatur inkubieren.
- 15 Minuten lang bei 2000 U/min zentrifugieren.
- Sammeln Sie den Kulturüberstand ein. Das Serum wird dann auf 1/4 verdünnt.
- Verdünnen Sie den Kulturüberstand in Reagenz **BUF** auf 1/10, um eine adsorbierte Mutterverdünnung (1/40) zu erhalten.
- Wiederholen Sie das Protokoll „Durchführung des Tests auf Mikrotiterplatte“ und ersetzen Sie die Mutterverdünnung durch die adsorbierte Mutterverdünnung.

10 - ABLESEN

Negative Reaktion: Keine Hämagglutination.
Vorhandensein eines mehr oder weniger breiten Rings am Boden der Vertiefung.

Positive Reaktion: Vorhandensein von Hämagglutination.
Vorhandensein eines roten/braunen Schleiers, der die Vertiefung bedeckt; Vorhandensein eines dünnen Umfangstreifens.

Beispiel: Serum positiv bei 1/1280



11 - AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Titer <1/160: nicht signifikante Reaktion von einer fortschreitenden Infektion.
Ich kann auf eine alte oder behandelte Infektion hinweisen.
Wiederholen Sie den Test 2 bis 3 Wochen später und verwenden Sie dabei Elektrosynthese oder Immunelektrophorese.

Titer ≥1/160: signifikante Reaktion.
Es besteht der Verdacht einer fortschreitenden Infektion.

12 - INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE
Die Reagenzien **CONTROL+** und **CONTROL-** müssen während der Analyse als Serum behandelt werden. Der Titer des Reagenzes **CONTROL+** muss dem auf dem Etikett des Fläschchens angegebenen Titer bei ± einer Verdünnung entsprechen. Das Reagenz **CONTROL-** darf keine Hämagglutination aufweisen. Wenn dies nicht der Fall ist, ist der Test ungültig.

13 - URSACHEN VON FEHLERN UND EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTS

- Schlechte Lagerung des Serums.
- Schlechte Lagerung der Reagenzien nach dem Öffnen.
- Verwenden Sie nur die im Kit enthaltenen Tropfer.
- Tauschen Sie die Tropfer nicht zwischen den Reagenzien **R1** und **R2** aus.
- Wenn die Reaktion in den ersten 6 Vertiefungen positiv ist, müssen Sie mit den Verdünnungen fortfahren, um den Grenzwert für den Hämagglutinationstiter zu ermitteln.
- Die Serumkontrolle muss ein negatives Ergebnis (Ring) aufweisen. Im Falle einer Hämagglutination dieser Kontrolle muss der Test wiederholt werden, nachdem die natürlichen Anti-Schaf-Agglutinine durch Adsorption aus dem Serum entfernt wurden.
- Die Reagenzienkontrolle muss ein negatives Ergebnis (Ring) aufweisen. Im Falle einer Hämagglutination bei dieser Kontrolle handelt es sich um ein **ELI.H. A. Schistosoma**-Reagenz, das nicht gebraucht werden kann.
- Einige Seren, deren Antikörperkonzentration sehr hoch ist, können bei den ersten Verdünnungen ein Zonenphänomen (mit Zurückziehen des Schleiers) verursachen, das mit den folgenden Verdünnungen verschwindet.
- Die Qualität der Reagenzien ermöglicht die Durchführung der Reaktion am Abend und die Ablesung am nächsten Morgen, sofern die Mikrotiterplatte nicht bewegt wird und vor Vibrationen geschützt ist.
- In allen Fällen und bevor die endgültige Diagnose gestellt wird, sollte die Interpretation des Tests unter Einbeziehung aller klinischen, epidemiologischen und biologischen Daten und der Ergebnisse anderer Tests erfolgen.

14 - LEISTUNGEN
ELI.H. A Schistosoma besteht aus roten Blutkörperchen, die durch ein hochgereinigtes Antigen *Schistosoma mansoni* gereinigt sind. Dies garantiert die Sensitivität und Spezifität für diese indirekte Hämagglutinationsreaktion.
Die Leistungsbewertungen von 63 positiven Seren (*Schistosoma haematobium* und *mansoni*) und 56 negative Seren zeigten eine Sensitivität von 85,7 % und eine Spezifität von 98,2 %.

15 - ABFALLENTSORGUNG
Abfälle müssen gemäß den Hygienevorschriften und Gesetzen entsorgt werden, die im Verwendungsland für diese Art von Produkt gelten.
Bei versehentlichem Verschütten des Reagenz **BUF**: Reinigen Sie die Arbeitsfläche mit saugfähigem Papier und spülen Sie sie mit Wasser ab. Wenn Serum oder ein anderes Reagenz verschüttet wird: Mit Bleichmittel und saugfähigem Papier reinigen.

16 - LITERATURVERZEICHNIS

1. S. HOSHINO, M.-E.CAMARGO, L.-C. DA SILVA - Standardization of a haemagglutination test for schistosomiasis with formalin-treated human erythrocytes - *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Band 19, Nr. 3, 463/470.
2. A. CAPRON, J. BIGUET, P. TRAN VAN KY, Y. MOSCHETTO - Immunological studies in various types of schistosomiasis - *Department of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Lille, Lille, France*.
3. J. TRIBOULEY, J. TRIBOULEY-DURET, M. APPRIOU, D. BERNARD, R. PAUTRIZEL - Application de la réaction d'hémagglutination passive au diagnostic sérologique de la schistosomiose à *Schistosoma mansoni* - *Bull. Organ. Mond. Santé*, 1976, Band 54, 695/702.
4. L. AHMED, A. DODIN - Valeur de la réaction d'hémagglutination passive dans la bilharziose - *Bulletin de la société de Pathologie Exotique*, 1977, Nr. 5, 485/489.
5. P. AMBROISE-THOMAS, R. GRILLOT - L'hémagglutination indirecte dans le diagnostic des bilharzioses. Comparaison à l'immuno-fluorescence indirecte dans l'étude de 3624 sérums humains - *Bulletin de la société de Pathologie Exotique*, 1980, Nr. 3, 277/288.
6. P. WATTRE, M. CAPRON, J.-P. DESSAINT, A. CAPRON - Apport de l'immunologie au diagnostic et au traitement des maladies parasitaires - *Immunologie (II)* - *IF*, 1980, 30, 15.
7. M. EL-SAYED AZAB, E. ABBAS EL-ZAYAT - Evaluation of purified antigens in haemagglutination test (IHA) for determination of cross reactivities in diagnosis of fascioliasis and schistosomiasis - *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 1996, Band 26, Nr. 3, 677-685.