# ELI.HA *Schistosoma*

## Οροδιαγνωστική της σχιστοσωμίασης από έμμεση αιμοσυγκόλληση

**120 δοκιμές**

(Σχετ. 66600)

**8000120-EL-2025-07**

Για διάγνωση *in vitro* μόνο για επαγγελματική χρήση.
Οι δοκιμές είναι μόνο για μία χρήση.

CE

### 1 - ΣΤΟΧΟΣ

**ELI.HA *Σχιστοσωμίασης*** επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό, με έμμεση αιμοσυγκόλληση, των αντισωμάτων ορού σε ασθενείς με μπιλιάρζαση *Schistosoma [Σχιστοσωμίαση] mansoni* (εντερικός εντοπισμός) και *Schistosoma [Σχιστοσωμίαση] hæmatobium* (ουρητική θέση).
Το κιτ επιτρέπει τη διεξαγωγή 120 δοκιμών ή 20 αντιδράσεων με 6 αραιώσεις.

### 2 - ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το Bilharzia, ή η σχιστοσωμίαση, είναι μια ομάδα παρασιτικών ασθενειών που προκαλούνται από μη διακλαδισμένα πλατύφυλλα του γένους *Schistosoma*.
Τα σκουλήκια ενηλίκων προκαλούν προοδευτική εμφάνιση ανοσίας. Τα αυγά είναι ο παθογόνος παράγοντας της ασθένειας. Η δράση λαμβάνει χώρα σε τρεις διαδοχικές φάσεις: μόλυνση - εισβολή - κατάσταση.
Η διάγνωση της μπιλιάρζας μπορεί να επιβεβαιωθεί από την ανίχνευση των αυγών, τα οποία δεν μπορούν να ανιχνευθούν πριν την «κρατική» φάση. Επομένως, η παρασιτική ανοσολογική διάγνωση είναι απαραίτητη στην αρχή της νόσου.

### 3 - ΑΡΧΗ

**ELI.H.A *Schistosoma [σχιστοσωμίαση]*** βασίζεται στην αρχή της έμμεσης αιμοσυγκόλλησης. Ερυθρά αιμοσφαίρια ευαισθητοποιημένα είναι ερυθρά αιμοσφαίρια προβάτου που καλύπτονται με αντιγόνο *Schistosoma mansoni.* Η παρουσία συγκεκριμένων αντισωμάτων ορού προκαλεί συγκόλληση ευαισθητοποιημένων ερυθρών αιμοσφαιρίων, πράγμα που έχει ως αποτέλεσμα ένα κόκκινο / καφέ πέπλο που καλύπτει το κύπελλο. Ελλείψει ειδικών αντισωμάτων, αυτά τα ερυθρά κύτταρα καθιζάνουν στον πυθμένα του κυπέλλου υπό τη μορφή δακτυλίου. Τα μη ευαισθητοποιημένα ερυθρά αιμοσφαίρια εξασφαλίζουν την εξειδίκευση της αντίδρασης και καθιστούν δυνατή την εξάλειψη των παρεμβολών που οφείλονται σε φυσικές συγκολλητίνες κατά των προβάτων (ετεροαντισώματα Forssman, αντισώματα μολύνσεως από μόλυνση, κλπ.).
Η αντίδραση διεξάγεται σε μικροπλάκα με πυθμένα U.
Ο χειρισμός είναι απλός και γρήγορος. Τα αποτελέσματα λαμβάνονται σε 2 ώρες.

### 4 - ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

| Περιγραφή | Ποσότητα |
|---|---|
| **R1 :** φιάλη των 2.4 mL ευαισθητοποιημένων ερυθρών αιμοσφαιρίων | **1** |
| **R2 :** Φιαλίδιο 1 ml από μη ευαισθητοποιημένα ερυθρά αιμοσφαίρια | **1** |
| **BUF:** Φιάλη 55 mL ρυθμιστικού φωσφορικού pH 7,2 | **1** |
| **R3 :** 2 mL φιαλίδιο προσροφητή | **1** |
| **CONTTROL +:** 0,2 mL φιάλη τιτλοδοτημένου θετικού ελέγχου | **1** |
| **CONTROL -:** φιάλη 0.2 mL αρνητικού μάρτυρα | **1** |
| **MICROPLATE:** Μικροπλάκα σε σχήμα U | **2** |
| **DROPPER:** ειδικό σταγονόμετρο | **2** |

### 5 - ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΡΓΑΣΙΑ

- Τα αντιδραστήρια προορίζονται μόνο για διάγνωση *in vitro (σε δοκιμαστικό σωλήνα)* και πρέπει να γίνεται από εξουσιοδοτημένα άτομα. Οι δοκιμές είναι μόνο για μία χρήση.
- Όλα τα αντιδραστήρια, εκτός από τα αντιδραστήρια **BUF**, περιέχουν ουσίες ζωικής προέλευσης και πρέπει να αντιμετωπίζονται με τις συνήθεις προφυλάξεις.
- Τα δείγματα είναι δυνητικά μολυσματικά. Πρέπει να γίνεται με τις συνήθεις προφυλάξεις σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής και τους κανονισμούς που ισχύουν στη χώρα χρήσης.
- Τα αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του νατρίου (συγκέντρωση < 0.1%). Το αζίδιο του νατρίου που περιέχεται στα αντιδραστήρια μπορεί να αντιδράσει με τα βαρέα μέταλλα στους σωλήνες σχηματίζοντας εκρηκτικές ενώσεις. Συνεπώς, συνιστάται να μην απορρίπτετε τα αντιδραστήρια στον νεροχύτη και να ακολουθείτε τις ισχύουσες συστάσεις και κανονισμούς για την απόρριψη αποβλήτων.
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης.
- Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες.
- Περιμένετε έως ότου ο ορός και τα αντιδραστήρια εξισορροπούνται σε θερμοκρασία δωματίου.
- Ανακινήστε καλά τα αντιδραστήρια **R1** και **R2** πριν από τη χρήση.
- Κατά τη χορήγηση αντιδραστηρίων **R1** και **R2**, βεβαιωθείτε ότι η σταγόνα είναι τελείως κάθετη. Βεβαιωθείτε ότι δεν υπάρχουν φυσαλίδες αέρα στις σταγόνες έτσι ώστε οι όγκοι που παραδίδονται να είναι σταθεροί.

### 6 - ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Χρησιμοποιήστε φρέσκους ή διατηρημένους ορούς στους -20 ° C, χωρίς αιμόλυση θολότητας ή μόλυνσης.
Αποφύγετε την επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη.
Μην αποικοδομείτε τον ορό.

### 7 - ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια είναι έτοιμα για χρήση.
Όλα τα αντιδραστήρια που είναι αποθηκευμένα στους 2-8 ° C είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο κιτ. Δεν πρέπει να παγώσουν.

### 8 - ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Αυτόματη (-ες) πιπέτα (-ες) με όγκο διανομής προσαρμοσμένη στην προς μέτρηση ποσότητα.
- Δοχεία για μολυσμένα απόβλητα.
- Φυγοκέντριση,
- Σωλήνες αιμόλυσης.

### 9 - ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

**Εξισορροπήστε τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν τη χρήση.**

#### 9.1 - Προετοιμασία του δείγματος

Αραιώστε τον ορό δοκιμής σε 1/40:
- 50 μL ορού.
- 1,95 mL αντιδραστηρίου **BUF**.

#### 9.2 - Διεξαγωγή της δοκιμής μικροπλακών

- Χρησιμοποιώντας μικροκυψέλη πολλαπλών καναλιών, διανείμετε 50 μL αντιδραστηρίου **BUF** σε 8 φρεάτια της μικροπλάκας.
- Χρησιμοποιώντας μικροπιπέτα, διανείμετε 50 μL του αραιωμένου ορού στο 1° κύπελλο.
  Αναμείξτε με το αντιδραστήριο **BUF** και μεταφορά, κατά προτίμηση χρησιμοποιώντας ένα μικρο-αραιωτικό ("τουλίπα"), 50 μL του 1$^{\text{επόχη}}$ κουκούλι στο 2$^{\text{ου}}$, από τις 2$^{\text{ου}}$ στο 3$^{\text{ου}}$, και ούτω καθεξής έως τις 6$^{\text{ου}}$ φλιτζάνι, απορρίπτοντας 50 μL από τα 6$^{\text{ου}}$ κύπελλο.
  Λαμβάνονται έτσι οι αραιώσεις 1/80 έως 1/2560.
- Διανείμετε 50 μL του αραιωμένου ορού στο 7°
  κύπελλο. Αναμείξτε με το αντιδραστήριο **BUF** και
  απορρίψτε 50 μL.
  Αυτή η αραίωση (1/80) είναι ο έλεγχος ορού, ο ρόλος του οποίου είναι να ανιχνεύσει φυσικές συγκολλητίνες προβάτων που μπορεί να περιέχουν μερικούς ορούς.
- Ανακινήστε καλά τα αντιδραστήρια **R1** και **R2**.
  - Τοποθετήστε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου **R1** στα πρώτα 6 φλυτζάνια.
  - Τοποθετήστε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου **R2** στο 7° κύπελλο (έλεγχος ορού).
  - Τοποθετήστε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου **R1** στο 8$^{\text{ου}}$ κύπελλο (αντιδραστικός έλεγχος) του οποίου ο ρόλος είναι να ελέγξει την εγκυρότητα των ρυθμιστικών και των ευαισθητοποιημένων ερυθρών αιμοσφαιρίων.

Παρατήρηση : Εκτελέστε μόνο ένα αντιδραστικό έλεγχο ανά σειρά δοκιμών
- Ομογενοποιήστε πολύ προσεκτικά τα περιεχόμενα των κυπέλλων:
  - είτε με το χέρι, χτυπώντας δίπλα από τις πλευρές της πλάκας, τοποθετημένης σε ένα επίπεδο,
  - είτε με χρήση αναδευτήρα ανάδευσης για πλάκες μικροτιτλοποίησης (για παράδειγμα 1300 περιστροφές / λεπτό για 10 δευτερόλεπτα). Μην χρησιμοποιείτε έναν τροχιακό αναδευτήρα.
- Αφήστε την πλάκα ακίνητη, προστατευμένη από κραδασμούς.
- Διαβάστε την αντίδραση 2 ώρες αργότερα.

#### 9.3 - Προσρόφηση φυσικής συγκολλητίνης κατά των προβάτων σε περίπτωση συγκόλλησης του ορού ελέγχου

- Ανακινήστε καλά το αντιδραστήριο **R3**.
- Διανείμετε σε ένα σωλήνα και αναμείξτε:
  - 0,1 mL ορού.
  - 0,3 mL αντιδραστηρίου **R3**.
- Επωάστε για 60 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
- Φυγοκεντρίστε σε 2000 rpm για 15 λεπτά.
- Συλλέξτε το υπερκείμενο υγρό. Ο ορός αραιώνεται έπειτα κατά 1/4.
- Αραιώστε το υπερκείμενο 1/10 στο αντιδραστήριο **BUF** για να ληφθεί μια απορρόφηση μητρικής αραίωσης (1/40).
- Επαναλάβετε το πρωτόκολλο "Προσδιορισμός μικροπλακών" αντικαθιστώντας την αρχική αραίωση με την προσροφημένη αραίωση του αποθέματος.

### 10 - ΑΝΑΓΝΩΣΗ

**Αρνητική αντίδραση :** **Απουσία αιμοσυγκόλλησης**.
Παρουσία ενός δακτυλίου περισσότερο ή λιγότερο φαρδύτερο στο κάτω μέρος του κυπέλλου.

**Θετική αντίδραση :** **Παρουσία αιμοσυγκόλλησης.**
Παρουσία ενός κόκκινου / καφέ πέπλος που καλύπτει το κούμπωμα.
Μερικές φορές, υπάρχει ένα ωραίο περιφερειακό περίγραμμα.

Παράδειγμα: Θετικός ορός στο 1/1280

### 11 - ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

**Τίτλος <1/160:** **Μη σημαντική αντίδραση μιας ενεργού λοίμωξης.**
Μπορεί να είναι μια παλιά ή θεραπευμένη λοίμωξη.
Ανανέωστε τη δοκιμή 2 έως 3 εβδομάδες αργότερα και συνδυάστε ηλεκτροσύνδεση ή ανοσοηλεκτροφόρηση.

**Τίτλος ≥ 1/160 :** **Σημαντική αντίδραση.**
Τεκμήριο προοδευτικής μόλυνσης.

### 12 - ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Αντιδραστήρια **ΕΛΕΓΧΟΣ +** και **ΕΛΕΓΧΟΣ-** θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως οι οροί που πρόκειται να αναλυθούν. Ο τίτλος του αντιδραστηρίου **ΕΛΕΓΧΟΣ +** πρέπει να είναι ίσος με τον τίτλο που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου σε ± μία αραίωση. Το αντιδραστήριο **ΕΛΕΓΧΟΣ-** πρέπει να έχει απουσία αιμοσυγκόλλησης. Αν αυτό δεν συμβαίνει, η δοκιμή δεν είναι έγκυρη.

### 13 - ΑΙΤΙΑ ΣΦΑΛΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΟΡΙΑ ΔΟΚΙΜΩΝ

- Κακή διατήρηση του ορού.
- Λανθασμένη αποθήκευση αντιδραστηρίων μετά το άνοιγμα.
- Χρησιμοποιείτε μόνο τα σταγονόμετρα που παρέχονται στο κουτί.
- Μην αλλάζετε τις σταγόνες μεταξύ των αντιδραστηρίων **R1** και **R2**.
- Στην περίπτωση θετικής αντίδρασης στα πρώτα 6 φλυτζάνια, συνεχίστε τις αραιώσεις για να βρείτε τον οριακό τίτλο αιμοσυγκόλλησης.
- Ο έλεγχος του ορού θα πρέπει να δώσει μια αρνητική αντίδραση (δακτύλιος). Σε περίπτωση αιμοσυγκόλλησης αυτού του ελέγχου, είναι απαραίτητο να επαναληφθεί η δοκιμασία μετά την εξάλειψη των φυσικών αντι-προβάτων συγκολλητινών από τον ορό με προσρόφηση.
- Ο αντιδραστικός έλεγχος πρέπει να δώσει αρνητική αντίδραση (δακτύλιος). Σε περίπτωση αιμοσυγκόλλησης αυτού του ελέγχου, το αντιδραστήριο **ELI.HA *Schistosoma*** δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί.
- Μερικοί οροί, των οποίων η συγκέντρωση αντισωμάτων είναι πολύ υψηλή, μπορεί να προκαλέσει ένα φαινόμενο ζώνης (με συστολή του πέπλου) στις πρώτες αραιώσεις, το οποίο εξαφανίζεται στις ακόλουθες αραιώσεις.
- Η ποιότητα των αντιδραστηρίων καθιστά δυνατή την πραγματοποίηση της αντίδρασης το βράδυ και την εκτέλεση της ανάγνωσης το επόμενο πρωί, υπό την προϋπόθεση ότι η μικροπλάκα δεν υφίσταται μετατόπιση και είναι άνοστος στους κραδασμούς.
- Σε όλες τις περιπτώσεις και πριν από την τελική διάγνωση, η ερμηνεία της δοκιμής πρέπει να διεξάγεται με την ενσωμάτωση όλων των κλινικών, επιδημιολογικών και βιολογικών δεδομένων και των αποτελεσμάτων των άλλων δοκιμών.

### 14 - ΕΠΙΔΟΣΕΙΣ

**ELI.HA *Schistosoma*** αποτελείται από ερυθρά αιμοσφαίρια ευαισθητοποιημένα με ένα αντιγόνο *Schistosoma mansoni* υψηλής καθαρότητας, που εξασφαλίζει την ευαισθησία και την εξειδίκευση στη αντίδρασης αιμοσυγκόλλησης έμμεση.
Οι αξιολογήσεις απόδοσης 63 θετικών ορών (*Schistosoma haematobium* και *mansoni*) και 56 αρνητικών ορών έδειξαν ευαισθησία 85,7% και ειδικότητα 98,2%.

### 15 - ΔΙΑΘΕΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Τα απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους ισχύοντες κανόνες και κανονισμούς υγιεινής για αυτόν τον τύπο αντιδραστηρίων στη χώρα χρήσης.
Σε περίπτωση τυχαίας πληρωμής του αντιδραστηρίου **BUF**, καθαρίστε την επιφάνεια εργασίας με απορροφητικό χαρτί και ξεπλύνετε με νερό. Αν έχετε ορό ή άλλο αντιδραστήριο, καθαρίστε με λευκαντικές και χαρτοπετσέτες.

### 16- ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ


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*, Vol. 19, N°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 schistosomiase à *Schistosoma mansoni - Bull. Organ. Mond. Santé*, 1976, Vol. 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, N°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, N°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) - R.P.*, 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 schistosiomasis – *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 1996, Vol 26, N°3, 677-685.


οι αλλαγές από την προηγούμενη έκδοση επισημαίνονται με γκρι χρώμα.


**ELITech MICROBIO**
Parc d'Activités du Plateau
Allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
☎: 04 94 88 55 00
http://www.elitechgroup.com