


ELI.H.A Schistosoma

Serodiagnóstico de la bilharziosis por hemaglutinación indirecta

120 pruebas
(Ref. 66600)



8000120-ES-2025-07
Sólo para uso diagnóstico *in vitro*, sólo para uso profesional.
Pruebas de un solo uso.

1 - FINALIDAD
ELI.H.A Schistosoma permite la determinación cuantitativa, por hemaglutinación indirecta, de anticuerpos séricos de pacientes con bilharziosis a *Schistosoma mansoni* (localización intestinal) y a *Schistosoma haematobium* (localización urinaria).
La caja permite realizar 120 pruebas o 20 reacciones de 6 diluciones.

2 - INTRODUCCIÓN
Las bilharziasis, o esquistosomiasis, representan un grupo de afecciones parasitarias debidas a gusanos planos no segmentados del género *Schistosoma*.
Los gusanos adultos inducen la aparición progresiva de la inmunidad. Los huevos son el elemento patógeno de la enfermedad. La afección se desarrolla en tres fases sucesivas: contaminación - invasión - estado.
El diagnóstico de la bilharziosis puede ser afirmado por la evidencia de los huevos, sin embargo, estos no pueden ser detectados antes de la fase "de estado". Por lo tanto, el diagnóstico inmunológico parasitario es esencial al comienzo de la enfermedad.

3 - PRINCIPIO
ELI.H.A Schistosoma se basa en el principio de hemaglutinación indirecta. Los glóbulos rojos sensibilizados consisten en glóbulos rojos de oveja cubiertos por un antígeno *Schistosoma mansoni*. La presencia de anticuerpos séricos específicos provoca una aglutinación de los hematíes sensibilizados que se traduce en un velo rojo / marrón que recubre la cúpula. En ausencia de anticuerpos específicos, estos glóbulos rojos sedimentan en el fondo de la cúpula en forma de anillo. Los glóbulos rojos no sensibilizados aseguran la especificidad de la reacción y permiten eliminar las interferencias debidas a las aglutininas naturales anti ovejas (heteroanticuerpos de Forssman, anticuerpos de la mononucleosis infecciosa...).
La reacción se realiza en microplaca a fondo en U.
La manipulación es sencilla y rápida. Los resultados se obtienen en 2 horas.

4 - REACTIVOS Y MATERIALES

Descripción	Cantidad
R1 : vial de 2,4 mL de hematíes sensibilizados	1
R2 : vial de 1 mL de glóbulos rojos no sensibilizados	1
BUF : vial de 55 mL de tampón fosfato pH 7,2	1
R3 : vial de 2 mL de adsorbente	1
CONTROL + : vial de 0,2 mL de control positivo valorado	1
CONTROL - : vial de control negativo de 0,2 mL	1
MICROPLATE : microplaca con fondo en U	2
DROPPER : cuentagotas especial	2

5 - PRECAUCIONES DE EMPLEO

- Los reactivos están destinados únicamente a un diagnóstico *in vitro* y deben ser manipulados por personas autorizadas. Las pruebas son para un solo uso.
- Todos los reactivos, excepto el reactivo **BUF**, contienen sustancias de origen animal y deben manipularse con las debidas precauciones.
- Las muestras son potencialmente infecciosas. Deben manipularse con las precauciones de uso respetando las normas de higiene y la reglamentación en vigor en el país de utilización.
- Los reactivos contienen azida sódica (concentración < 0.1%). La azida sódica contenida en los reactivos puede reaccionar con los metales pesados de las tuberías y formar compuestos explosivos. Por lo tanto, se recomienda no desecharlos por el desagüe y seguir las recomendaciones y normativas vigentes sobre eliminación de residuos.
- No utilice reactivos más allá de la fecha de caducidad.
- No utilice reactivos de diferentes lotes.
- Esperar a que el suero y los reactivos se equilibren a temperatura ambiente.
- Agitar cuidadosamente los reactivos **R1** y **R2** antes de su uso.
- Al distribuir los reactivos **R1** y **R2**, asegúrese de que el cuentagotas esté perfectamente vertical. Comprobar la ausencia de burbujas de aire en las gotas, para que los volúmenes suministrados sean constantes.

6 - RECOGIDA Y TRATAMIENTO DE LAS ECHANTILLONS

Utilizar sueros frescos o conservados a - 20°C, y que no presenten hemólisis de turbidez ni contaminación.

Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas.
No descomplementar el suero.

7 - CONSERVACIÓN Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos están listos para su uso.
Todos los reactivos conservados a 2-8°C son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el estuche. No se deben congelar.

8 - MATERIAL REQUERIDO PERO NO SUMINISTRADO

- Pipeta(s) automática(s) al volumen de pipeteo adaptado a la cantidad a medir;
- Recipientes para residuos contaminados;
- Centrífuga
- Tubos de hemólisis.

9 - MODO OPERATIVO

Equilibrar los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso.

9.1 - Preparación de la muestra

Diluir el suero para probar al 1/40:

- 50 µL de suero;
- 1,95 mL de reactivo **BUF**.

9.2 - Realización de la prueba de microplaca

- Con la ayuda de una micropipeta multicanal, distribuir 50 µL de reactivo **BUF** en 8 cúpulas de la microplaca.
- Con la ayuda de una micropipeta, distribuir 50 µL del suero diluido en la 1ª cúpula. Mezclar con el reactivo **BUF** y posponer, preferiblemente con la ayuda de un micro-diluidor ("tulipán"), 50 µL de la 1ª cúpula en la 2ª, de la 2ª en la 3ª, y así sucesivamente hasta la 6ª cúpula, rechazando 50 µL de la 6ª cúpula. Se obtienen así las diluciones 1/80 hasta el 1/2560.
- Distribuir 50 µL del suero diluido en la 7ª cúpula. Mezclar con el reactivo **BUF** y rechazar 50 µL. Esta dilución (1/80) constituye el testigo suero, cuya función es detectar las aglutininas naturales anti ovejas que pueden contener algunos sueros.
- Agitar cuidadosamente los reactivos **R1** y **R2**.
 - Coloque 1 gota de reactivo **R1** en las primeras 6 cúpulas.
 - Colocar 1 gota de reactivo **R2** en la 7ª cúpula (testigo suero).
 - Colocar 1 gota de reactivo **R1** en la octava cúpula (testigo reactivo) cuya función es controlar la validez del tampón y de los hematíes sensibilizados.

Nota: Realizar solo un testigo reactivo por serie de pruebas.

- Homogeneizar muy cuidadosamente el contenido de las copas:
 - o bien manualmente, por toques laterales en los lados de la microplaca, colocada en plano;
 - o bien mediante un agitador vibratorio para placas de microtitulación (por ejemplo, 1300 revoluciones por minuto durante 10 segundos). No utilice agitadores orbitales.
- A continuación, dejar la placa inmóvil, al abrigo de cualquier vibración.

- Lea la reacción 2 horas más tarde.

9.3 - Adsorción de aglutininas naturales anti ovejas en caso de aglutinación del testigo sérico

- Agitar cuidadosamente el reactivo **R3**.
- Distribuir en un tubo y mezclar:
 - 0,1 mL de suero;
 - 0,3 mL de reactivo **R3**.
- Dejar incubar 60 minutos a temperatura ambiente.
- Centrifugar a 2000 rpm durante 15 min.
- Recoger el sobrenadante; el suero se diluye a 1/4.
- Diluir el sobrenadante a 1/10 en reactivo **BUF** para obtener una dilución madre (1/40) adsorbida.
- Reanudar el protocolo de "Realización de la prueba de microplaca" sustituyendo la dilución madre por la dilución madre adsorbida.

10 - LECTURA

Reacción adversa:	Ausencia de hemaglutinación. Presencia de un anillo más o menos ancho en el fondo de la cúpula.
Reacción positiva:	Presencia de hemaglutinación. Presencia de un velo rojo/marrón que recubre la cúpula; a veces, presencia de un fino ribete periférico.

Ejemplo: Suero positivo a 1/280



11 - INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Título < 1/160:	Reacción no significativa de una infección activa. Puede corresponder a una infección antigua o tratada. Repetir la prueba 2 a 3 semanas más tarde y asociar una electroforesis o una inmunoelectroforesis.
Título ≥ 1/160:	Reacción significativa. Presunción de infección evolutiva.

12 - CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Los reactivos **CONTROL+** y **CONTROL-** deben tratarse como sueros a analizar. El título del reactivo **CONTROL+** debe ser igual al título anunciado en la etiqueta del vial a ± una dilución. El reactivo **CONTROL-** debe presentar una ausencia de hemaglutinación. Si no es así, la prueba no es válida.

13 - CAUSAS DE ERROR Y LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- Mala conservación del sérum.
- Mala retención de los reactivos después de abrirlos.
- Utilice exclusivamente los cuentagotas incluidos en el estuche.
- No cambie los cuentagotas entre los reactivos **R1** y **R2**.
- En caso de reacción positiva en las 6 primeras cúpulas, continuar las diluciones para buscar el título de hemaglutinación límite.
- El testigo de suero debe dar una reacción negativa (anillo). En caso de hemaglutinación de este testigo, es necesario repetir la prueba después de haber eliminado las aglutininas naturales anti ovejas del suero por adsorción.
- El testigo reactivo debe dar una reacción negativa (anillo). En caso de hemaglutinación de este testigo, el reactivo **ELI.H.A Schistosoma** no es utilizable.
- Algunos sueros, cuya concentración de anticuerpos es muy elevada, pueden dar lugar a un fenómeno de zona (con retracción del velo) en las primeras diluciones, que desaparece en las diluciones siguientes.
- La calidad de los reactivos permite ejecutar la reacción por la noche y efectuar la lectura a la mañana siguiente, siempre que la microplaca no sufra ningún desplazamiento y esté protegida de las vibraciones.
- En todos los casos y antes del establecimiento del diagnóstico final, la interpretación de la prueba debe realizarse integrando todos los datos clínicos, epidemiológicos y biológicos y los resultados de otras pruebas.

14 - RENDIMIENTO

ELI.H.A Schistosoma está constituido por glóbulos rojos sensibilizados por un antígeno *Schistosoma mansoni* altamente purificado, que asegura sensibilidad y especificidad a esta reacción de hemaglutinación indirecta.
Las evaluaciones de rendimiento de 63 sueros positivos (*Schistosoma haematobium* y *mansoni*) y 56 negativos mostraron una sensibilidad del 85,7% y una especificidad del 98,2%.


15 - ELIMINACIÓN DE LOS DESECHOS

Los residuos deben eliminarse de acuerdo con las normas y reglamentos de higiene vigentes para este tipo de reactivos en el país de uso.
En caso de vertido accidental de reactivo **BUF**, limpiar la encimera con papel absorbente y enjuagar con agua. Si se vierte suero u otro reactivo, límpielo con lejía y papel absorbente.

16 - BIBLIOGRAFÍA

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, Facultad de Medicina, University of Lille, Lille, Francia.
3. J. TRIBOULEY, J. TRIBOULEY-DURET, M. APPRIOU, D. BERNARD, R. PAUTRIZEL - Aplicación de la reacción de hemaglutinación pasiva al diagnóstico serológico de la esquistosomiasis por *Schistosoma mansoni* - Bol. Órgano mond Salud, 1976, vol. 54, 695/702.
4. L. AHMED, A. DODIN - Valor de la reacción de hemaglutinación pasiva en la bilharziosis - Boletín de la Sociedad de Patología Exótica, 1977, N°5, 485/489.
5. P. AMBROISE-THOMAS, R. GRILLOT - Hemaglutinación indirecta en el diagnóstico de bilharziasis. Comparación con la inmunofluorescencia indirecta en el estudio de 3624 sueros humanos - Boletín de la Sociedad de Patología Exótica, 1980, N°3, 277/288.
6. P. WATTRE, M. CAPRON, J.-P. DESSAINT, A. CAPRON - Contribución de la inmunología al diagnóstico y al tratamiento de las enfermedades parasitarias - Inmunologia (II) - R.-P., 1980, 30, 15.

Los cambios desde la revisión anterior, están resaltados en gris.



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