

ELI.H.A Schistosoma

Serodijagnoza bilharzije z test indirektne hemaglutinacije

120 Testi
(Ref. 66600)

8000120-SL-2025-07
Samo za *in vitro* diagnostično uporabo, samo za profesionalno uporabo.
Test za enkratno uporabo.

1 - CILJ
ELI.HA Schistosoma omogoča kvantitativno določanje, s posrednim hemaglutinacijo, Serumska protitelesa pri bolnikih z bilharzijo *Schistosoma mansoni* (črevesna lokalizacija) in *Schistosoma haematobium* (sečinna).
Komplet omogoča izvedbo 120 testov ali 20 reakcij 6 razredčitev.

2 - UVOD
Bilharzija ali šistosomijaza je skupina parazitskih bolezni, ki jih povzročajo nesegmentni ploski črvi rodu *Schistosoma*.
Odrasli črvi povzročajo postopen začetek imunite. Jajca so patogeni bolezni. Bolezen poteka v treh zaporednih fazah: kontaminacija - invazija - stanje.
Diagnozo bilharzije je mogoče potrditi z odkrivanjem jajčec, ki jih ni mogoče zaznati pred "obstoja" fazo. Parazitska imunološka diagnoza je zato nujna na začetku bolezni.

3 - NAČELO
ELI.HA Schistosoma temelji na načelu posredne hemaglutinacije. Rdeče krvne celice občutljive so ovce rdeče krvne celice, prekrte z antigenom *Schistosoma mansoni*. Prisotnost specifičnih serumskih protiteles povzroči aglutinacijo senzibiliziranih rdečih krvničk, kar ima za posledico rdečo / rjavo tančico, ki obdaja skodelico. V odsotnosti specifičnih protiteles, te rdeče celice sedimentirajo na dnu skodelice v obliki obroča. Ne-senzibilizirane rdeče krvne celice zagotavljajo specifičnost reakcije in omogočajo odpravljanje motenj zaradi naravnih aglutininov proti ovci (Forssman heteroantitodije, infektivska mononukleozna protitelesa itd.).
Reakcija poteka v mikro plošči U-dna.
Ravnanje je preprosto in hitro. Rezultate dobimo v 2 urah.

4 - REAGENTI IN OPREMA

Opis	Količina
R1 : steklenico 2,4 ml senzibiliziranih rdečih krvnih celic	1
R2 : 1 ml steklenička brez senzibiliziranih rdečih krvnih celic	1
BUF : steklenička 55 mL s fosfatnim tamponom pH 7,2	1
R3 : 2 ml steklenice adsorbenta	1
CONTROL + : 0,2 ml steklenica s titriranim pozitivnim nadzorom	1
CONTROL - : steklenica 0,2 ml negativnega nadzora	1
MICROPLATE : U-mikro plošča	2
DROPPER : poseben kapljalnik	2

5 - PREVIDNOSTNI UKREPI

- Reagenti so namenjeni samo diagnozi *in vitro* in morajo z njimi ravnati pooblaščen osebe. Preizkusi so za enkratno uporabo.
- Vsi reagenti razen reagenta **BUF**, vsebujejo snovi živalskega izvora in jih je treba ravnati z običajnimi varnostnimi ukrepi.
- Vzorci so potencialno okuženi. Z njimi je treba ravnati z običajnimi previdnostnimi ukrepi v skladu s higienskimi predpisi in predpisi, ki veljajo v državi uporabe.
- Reagenti vsebujejo natrijev azid (koncentracija < 0.1%). Natrijev azid, ki ga vsebujejo reagenti, lahko reagira s težkimi kovinami v ceveh in tvori eksplozivne spojine. Zato je priporočljivo, da reagentov ne odlagate v odtoke in da upoštevate veljavna priporočila in predpise za odstranjevanje odpadkov.
- Ne uporabljajte reagentov po datumu izteka roka uporabnosti.
- Ne uporabljajte reagentov iz različnih serij.
- Počakajte, da se reagenti uravnotežijo pri sobni temperaturi.
- Temeljito pretresite reagente **R1** in **R2** pred uporabo.
- Pri odvajanju reagentov **R1** in **R2**, poskrbite, da je kapalka povsem navpična. Preverite, ali v kapljicah ni zračnih mehurčkov, tako da so dostavljene količine konstantne.

6 - ZBIranJE IN OBDELAVA VZORCEV

Uporabite sveže ali konzervirane serume pri temperaturi -20 ° C, brez hemolize v meglici ali kontaminaciji.

Izogibajte se ponavljajočemu zamrzovanju in odmrzovanju.
Ne dekomputirajte seruma.

7 - KONZERVACIJA IN PRIPRAVA REAGENTOV

Reagenti so pripravljeni za uporabo.
Vsi reagenti, shranjeni pri 2-8 ° C, so stabilni do datuma poteka, ki je naveden na kompletu. Ne smemo zamrzniti.

8 - POTREBNA OPREMA, KI NI VKLJUČENA

- Avtomatska pipeta (-e) s pipetirno prostornino, prilagojeno količini, ki jo je treba izmeriti;
- Posode za kontaminirane odpadke
- Centrifuga
- Hemolizne cevi.

9 - POSTOPEK

Ekvilibrirajte reagente pri sobni temperaturi pred uporabo.

9.1 - Priprava vzorca

Razredčite testni serum na 1/40:

- 50 µl seruma;
- 1,95 ml reagenta **BUF**.

9.2 - Izvedba preskusa mikro plošče

- Z uporabo večkanalnega mikropipeta odstranite 50 µL reagenta **BUF** v 8 vdolbinah mikroplošče.
- Z mikropipeto odmerite 50 µl razredčenega seruma v 1^{sta} v pokal.
Mešajte z reagentom **BUF** in prenos, prednostno z mikro-razredčilom ("tulip"), 50 µL od 1^{prve} kupule v 2, od 2 v 3, in tako naprej do 6^{skodelice}, zavrača 50 µL od 6^{skodelice} pokala.
Tako dobimo 1/80 do 1/2560 razredčitev.
- Razredčite 50 µL razredčenega seruma v 7th pokal.
Mešajte z reagentom **BUF** in zavrne 50 µL.
To redčenje (1/80) je serumski nadzor, katerega vloga je odkrivanje naravnih anti-ovčjih aglutininov, ki lahko vsebujejo nekatere serume.
- Temeljito pretresite reagente **R1** in **R2**.
 - Deponirajte 1 kapljico reagenta **R1** v prvih 6 skodelic.
 - Deponirajte 1 kapljico reagenta **R2** v 7th skodelico (kontrola seruma).
 - Deponirajte 1 kapljico reagenta **R1** v 8th skodelico (reaktivna kontrola), katere vloga je preveriti veljavnost puferja in občutljive rdeče krvne celice.

Opomba: Na testno vožnjo izvedite samo en reaktivni nadzor.

- Previdno homogenizirajte vsebino skodelic:
 - bodisi ročno, s stranskim dotikanjem na straneh mikroplošče, položimo ravno;
 - bodisi s stresalnim mešalom za mikrotitrsko ploščo (npr. 1300 vrtljajev / minuto v 10 sekundah). Ne uporabljajte orbitalnega stresalnika.
- Plošoa pustite še vedno zaščiteno pred vibracijami.
- Preberite reakcijo 2 uri pozneje.

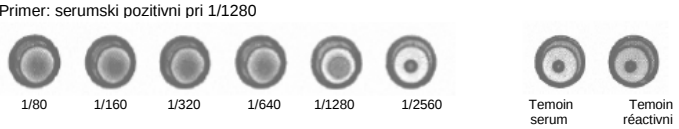
9.3 - Adsorpcija naravnih anti-ovčjih aglutininov v primeru aglutinacije nadzora seruma

- Temeljito pretresite reagent **R3**.
- Razdelite v cev in premešajte:
 - 0,1 ml seruma;
 - 0,3 ml reagenta **R3**.
- Inkubiramo 60 minut pri sobni temperaturi.
- Centrifugirajte pri 2000 vrt./min 15 min.
- Zberite supernatant; potem se serum razredči 1/4.
- Razredčilo supernatanta 1/10 v reagentu **BUF** da dobimo enakomerno adsorbirano razredčilo (1/40).
- Ponovite protokol "Microplate Assay", tako da nadomeščate starševsko razredčino z redčenjem adsorbiranega staleža.

10 - ODČITEK

Negativna reakcija : Odsotnost hemaglutinatinacije.
Prisotnost obroča bolj ali manj široko na dnu skodelice.

Pozitivna reakcija : →Prisotnost hemaglutinacije.
Prisotnost rdeče / rjave tančice, ki obdaja kupulo; Včasih je na obrobju periferne meje.



11 - RAZLAGA REZULTATOV

Naslov < 1/160 : →**Nesmiselna reakcija aktivne okužbe.**
Lahko je stara ali zdravljena okužba.
obnoviti test 2 do 3 tedne kasneje in združiti elektrosinereze ali imunoelektroforezo.

Naslov ≥ 1/160 : →**Pomembna reakcija.**
Domneva o progresivni okužbi.

12 - NOTRANJE KONTROLE KAKOVOSTI

Reagenti **CONTROL +** in **Kontrolni** je treba obravnavati kot serume, ki jih je treba analizirati.
Naslov reagenta **CONTROL +** mora biti enak naslovu, navedenemu na nalepki stekleničke pri ± eni raztopini. Reagent **Kontrolni** mora imeti odsotnost hemaglutinacije. Če temu ni tako, test ni veljaven.

13 - NEZGODNI VZROKI IN OMEJITVE PRESKUŠANJA

- Slabo ohranjanje seruma.
- Nepravilno skladiščenje reagentov po odprtju.
- Uporabljajte samo kapljice v škatli.
- Ne zamenjajte kapljic med reagenti **R1** in **R2**.
- V primeru pozitivne reakcije v prvih 6 skodelic nadaljujte z razredčitvami, da najdete mejni titer hemaglutinacije.
- Kontrola seruma mora imeti negativno reakcijo (obroč). V primeru hemaglutinacije te kontrole je treba ponoviti test po odstranitvi naravnih anti-ovčjih aglutininov iz seruma z adsorpcijo.
- Reaktivni nadzor mora povzročiti negativno reakcijo (obroč). V primeru hemaglutinacije tega nadzora, reagenta **ELI.HA Schistosoma** ni mogoče uporabiti.
- Nekateri serum, katerih koncentracija protiteles je zelo visoka, lahko v prvih razredčitvah povzroči pojav zonj (z vračanjem tančice), ki izgine v naslednjih razredčitvah.
- Kakovost reagentov omogoča, da zvečer izvedemo reakcijo in nadaljujemo branje naslednjega jutra, pod pogojem, da se mikroploščica ne premika in je imunska na vibracije.
- V vseh primerih in pred končno diagnozo je treba razlago preskusa opraviti z vključitvijo vseh kliničnih, epidemioloških in bioloških podatkov ter rezultatov drugih testov.

14 - PREDSTAVITVE

ELI.HA Schistosoma sestavljajo rdeče krvne celice, občutljive na antigen *Schistosoma mansoni* visoko očiščena, kar zagotavlja občutljivost in specifičnost te reakcije hemaglutinacije posredno.
Ocene učinkovitosti 63 pozitivnih serumov (*Schistosoma haematobium* in *mansoni*) in 56 negativnih serumov sta pokazali občutljivost 85,7% in specifičnost 98,2%.

15 - ODSTRANJEVANJE ODPADKOV

Odpadke je treba odstraniti v skladu s higienskimi predpisi in zakoni, ki veljajo za to vrsto reagentov v državi uporabe.
V primeru nenamernega plačila reagenta **BUF**, očistite delovno površino z vpojnim papirjem in sperite z vodo. V primeru nenamernega razliza seruma ali onesnaženja okolja z drugim reagentom, očistite z vodo Javel in papirnati brisačami.

16- Viri

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 schistosomiasis - *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 1996, Vol 26, N°3, 677-685.

Spremembe glede na prejšnjo različico
so označene s sivo.

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