

# ELI.H.A Schistosoma

## Sierodiagnosi della bilharziosi tramite emoaagglutinazione indiretta

120 Tests  
(Ref. 66600)

8000120-IT-2018-10

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



### 1 - SCOPO

ELI.H.A *Schistosoma* consente la determinazione di quantitativa degli anticorpi in campioni di siero di pazienti affetti da bilharziosi con *Schistosoma mansoni* (posizione intestinale), con *Schistosoma haematobium* (posizione urinario) tramite emoaagglutinazione indiretta. Il kit consente di eseguire 120 test o 20 reazioni di 6 diluizioni.

### 2 - INTRODUZIONE

Le bilharziosi, o schistosomiasi, rappresentano un gruppo di affezioni parassitarie dovute a vermi piatti non segmentati del genere *Schistosoma*. I vermi adulti inducono l'inizio graduale dell'immunità. Le uova sono l'elemento patogeno di patologia. L'affetto si sviluppa in tre fasi successive: contaminazione - invasione - stato. La diagnosi di schistosomiasi può essere affermata dalla dimostrazione degli ovuli, ma questi non possono essere rilevati prima della fase di "stato". La diagnosi immunologica parassitaria è quindi essenziale all'esordio della malattia.

### 3 - PRINCIPIO

ELI.H.A *Schistosoma* si basa su emoaagglutinazione indiretta. Eritrociti sensibilizzati sono composti di eritrociti di pecora rivestiti con un antigene *Schistosoma mansoni*. La presenza degli anticorpi specifici in campioni di siero è rivelata 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 DELLA CONFEZIONE

| Descrizione   | Quantità |
|---|----------|
| <b>R1</b> : Fiala di 2,4 mL dei eritrociti sensibilizzati         | 1        |
| <b>R2</b> : Fiala di 1 mL dei eritrociti non sensibilizzati       | 1        |
| <b>BUF</b> : Fiala di 55 mL di soluzione tampone fosfato pH 7,2   | 1        |
| <b>R3</b> : Fiala di 2 mL di sostanza assorbente                  | 1        |
| <b>CONTROL +</b> : Fiala di 0,2 mL di controllo positivo titolato | 1        |
| <b>CONTROL -</b> : Fiala di 0,2 mL di controllo negativo          | 1        |
| <b>MICROPLATE</b> : Micropiastre a U                              | 2        |
| <b>DROPPER</b> : 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.
- Le fiale **CONTROL** contengono sodio azide (con una contrazione inferiore allo 0,1% p/p).
- 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 decompilare 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 contaminate
- 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'ottavo 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 reagenti **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 tampone e dei eritrociti sensibilizzati.

**Nota**: 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-aggitatore 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

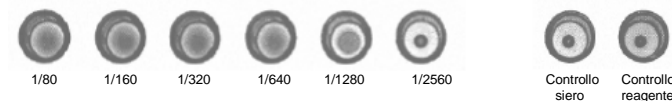
- Agitare con cautela il reagente **R3**.
- Introdurre in un tubo e mescolare:
  - 0,1 mL di siero test;
  - 0,3 mL di reagente **R3**.
- Incubare per 60 min a temperatura ambiente.
- Centrifugare a 2000 giri/min per 15 min.
- Raccogliere il fluido supernatante: il siero quindi è diluito 1/4.
- Diluire 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 emoaagglutinazione**  
Presenza di sul fondo del pozzetto. un anello più o meno ampia

**Reazione positiva:** **Emoaagglutinazione**  
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 < 1/160:** **Reazione non significativo di una infezione acuta.**  
Essa può corrispondere con un passato o un'infezione già trattata. Ripetere la prova di 2 o 3 settimane più tardi e associare una elettrosyneresis o un immunoelettroforesi.

**Titolo ≥ 1/160:** **Reazione significativo;**  
Presunzione di infezione acuta.

### 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 emoaagglutinazione 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 emoaagglutinazione limite.
- Il controllo del siero deve dare una reazione negativa (anello). In caso di emoaagglutinazione 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 emoaagglutinazione di questo controllo, il reagente **ELI.H.A Schistosoma** 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 *Schistosoma* è composto dei eritrociti sensibilizzati da un antigene *Schistosoma mansoni*, altamente purificata, che assicura sensibilità e specificità per la reazione di emoaagglutinazione indiretta. Le valutazioni delle prestazioni di 63 sieri positivi (*Schistosoma haematobium* e *mansoni*) e 56 sieri negativi hanno mostrato una sensibilità dell'85,7% e una specificità del 98,2%.

### 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. 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.

I cambiamenti rispetto alla versione precedente sono evidenziate in grigio.

**ELITech MICROBIO**

Parc d'activités du Plateau  
allée d'Athènes  
83870 SIGNES  
FRANCE  
Tel: +33 (0) 4 94 88 55 00  
Fax: +33 (0) 4 94 32 82 61  
http://www.elitechgroup.com

