

# ELI.HA *Schistosoma*

## Serodijanjosi ta' schistosomiasis minn emagglutinazzjoni indiretta

**120 test**  
(Ref. 66600)



8000120-nt-2018-10

### 1 - GHAN

**ELI.HA *Schistosoma*** tippermetti d-determinazzjoni kwantitattiva, b'emagglutinazzjoni indiretta, ta' antikorpi fis-serum ta' pazjent li jbatu minn schistosomiasis *Schistosoma mansoni* (lokalizzazzjoni intestinali) u *Schistosoma haematobium* (lokalizzazzjoni urinari).

Il-kaxxa tippermettitek li taghmel 120 test jew 20 reazzjoni ta' 6 dilwizzjonijiet.

### 2 - INTRODUZZJONI

Il-bilharziasis, jew schistosomiasis, jirrapreżentaw grupp ta' mard parassitariju minhabba flatworms mhux segmentati tal-ġeneru *Schistosoma*.  
Dud adulti jinduċu l-bidu progressiv ta' immunità. Il-bajd huwa l-element patoġeniku tal-marda. Il-marda tiżviluppa fi tliet fażijiet suċċessivi: kontaminazzjoni - invażjoni - stat.  
Id-dijanjosi tas-schistosomiasis tista' tigi kkonfermata billi tenfasizza l-bajd, iżda dawn ma jistgħux jigu skoperti qabel il-faži "tal-istat". Id-dijanjosi immunoloġika parassitika hija għalhekk essenzjali fil-bidu tal-marda.

### 3 - PRINĊIPJU

**ELI.HA *Is-Schistosoma*** hija bbażata fuq il-prinċipju ta' emagglutinazzjoni indiretta. Iċ-ċelluli homor sensitizzati jikkonsitu f'ċelluli homor tad-demmm tan-nagħaġ miksija b'antiġen *Schistosoma mansoni*. Il-preżenza ta' antikorpi tas-serum speċifiċi twassal għal agglutinazzjoni taċ-ċelluli homor tad-demmm sensitizzati li tirriżulta f'velu ahmar/kannella li jgħatti t-tazza. Fin-nuqqas ta' antikorpi speċifiċi, dawn iċ-ċelluli homor tad-demmm jiffurmaw sediment fil-qiegħ tal-tazza fil-forma ta' ċirku. Ċelluli homor tad-demmm mhux sensitizzati jiżguraw l-ispeċifiċità tar-reazzjoni u jagħmluha possibbli li tigi eliminata l-interferenza minhabba agglutinini naturali kontra n-nagħaġ (eteroantikorpi Forssman, antikorpi mononukleos infettiva, eċ.).

Ir-reazzjoni titwettag f'microplate b'qiegħ U.  
L-immunizzjoni huwa sempliċi u rapidu. Ir-riżultati jinkisbu f'sagħtejn.

### 4 - REAĠENTI U MATERJALI

Deskrizzjoni	Kwantità
<b>R1</b> : Kunjett ta' 2.4 mL ta' ċelluli homor sensitizzati	1
<b>R2</b> : Kunjett ta' 1 mL ta' ċelluli homor mhux sensitizzati	1
<b>BUF</b> : Kunjett ta' 55 mL ta' bafer tal-fosfat pH 7.2	1
<b>R3</b>  : Kunjett ta' 2 mL ta' adsorbent	1
<b>CONTROL+</b> : Kunjett ta' 0.2 mL ta' kontrolli pożittiv litrat	1
<b>CONTROL-</b> : Kunjett ta' 0.2 mL ta' kontrolli negattiv	1
<b>MICROPLATE</b> : Microplate tal-qiegħ U	2
<b>QATTAR</b> : qattara speċjali	2

### 5 - PREKAWZJONIJIET GĦALL-UŻU

- Ir-reagenti huma għal użu dijanjostiku biss *in vitro* u għandhom jigu mmanigġjati minn persuni awtorizzati. It-testijiet huma għal użu ta' darba biss.
- Ir-reagenti kollha hliet ir-reagenti **BUF**, fihom sustanzi li jorjġinaw mill-annimali u għandhom jigu mmanigġjati bil-prekawzjonijiet tas-soltu.
- Il-kampjuni huma potenzjalment infettivi. Għandhom jigu ttrattati bil-prekawzjonijiet tas-soltu, filwaqt li jirrispettaw ir-regoli tal-iġjene u r-regolamenti fis-sehh fil-pajjiż tal-użu.
- Il-kunjetti **CONTROL** fihom is-sodium azide (konċentrazzjoni < 0.1%).
- Tużax reagenti lil hinn mid-data ta' skadenza.
- Tużax reagenti minn lottijiet differenti.
- Halli s-serum u r-reagenti jibbilanġjaw għat-temperatura tal-ambjent.
- Hawwad ir-reagenti sewwa **R1** u **R2** qabel l-użu.
- Meta tqassam reagenti **R1** u **R2**, kun żgur li l-qattara tkun perfettament vertikali. Iċċekkja n-nuqqas ta' bżieqaq tal-arja fil-qtar, sabieħ il-volumi mwassla jkunu kostanti.

### 6 - ĠBIR U PROCÈSSAR TA' KAMPJUNI

Uża serums friski jew serums maħżuna f-20°C, u li ma juru l-ebda emolisi, imsaħha jew kontaminazzjoni. Evita l-iffriżar u l-tidwib ripetuti. Tiskomplementax is-serum.

### 7 - HAŻNA U PREPARAZZJONI TAR-REAĠENTI

Ir-reagenti huma lesti biex jintużaw.  
Ir-reagenti kollha maħżuna f2-8°C huma stabbli sad-data ta' skadenza indikata fuq il-kaxxa. M'għandhomx jigu ffrizati.

### 8 - MATERJALI MEHTIEĠA IMMA MHUX PROVVUDI

- Pipetta(jiet) awtomatika(ġi) bil-volum tal-pipetta adattat għall-kwantità li trid tikejjeļ;
- Reċipjenti għall-iskart ikkontaminat;
- Magna centrifuga;
- Tubi tal-emolisi.

### 9 - MOD TA' OPERAZZJONI

Ibbilanġja r-reagenti għat-temperatura tal-kamra qabel l-użu.

### 9.1 - Preparazzjoni tal-kampjun

- Iddilwa s-serum li jrid jiġi ttestjat għal 1/40:
  - 50 µL ta' serum;
  - 1.95 mL ta' reagent **BUF**.

### 9.2 - Twettiq tat-test tal-microplate

- Bl-użu ta' mikropipetta b'hafna kanali, aghți 50 µL ta' reagent **BUF** fi 8 tazzi tal-microplate.

- Billi tuża mikropipetta, qassam 50 µL tas-serum dilwit fl-ewwel tazza.  
Hallał mar-reagent **BUF** u ttrasferixxi, preferibbilment bl-użu ta' mikro-dilwitur ("tulpan"), 50 µL talewml tazza fittieni waħda, tattieniwahda fttielet waħda, u l-bqija sas-sitt waħda wkoll, filwaqt li tneħhi 50 µL missitt tazza. Għalhekk jinkisbu d-dilwizzjonijiet 1/80 sa 1/2560.

- Qassam 50 µL tas-serum dilwit fisseba' tazza.  
Hallał mar-reagent **BUF** u neħhi 50 µL.  
Din id-dilwizzjoni (1/80) tikkostitwixxi l-kontroll tas-serum, li r-rwol tiegħu huwa li jiskopri l-agglutinini naturali kontra n-nagħaġ li jista' jkun fihom ċertu serum.

- Hawwad ir-reagenti sew **R1** u **R2**.
  - Poġġi qatra waħda ta' reagent **R1** fl-ewwel 6 tazzi.
  - Poġġi qatra waħda ta' reagent **R2** fisseba' tazza (kontroll tas-serum).
  - Poġġi qatra waħda ta' reagent **R1** fittmien tazza(kontroll reattiv) li r-rwol tiegħu huwa li jiċċekkja l-validiā tal-bafer u taċ-ċelluli homor tad-demmm sensitizzati.

Nota: Aghmel kontroll ta' reagent wieħed biss għal kul serje ta' testijiet.

- Omoġenizza l-kontenut tat-tazzi b'attenzjoni kbira:
  - jew manwalment, billi ttektek lateralment fuq il-ġnub tal-microplate, impoġġja ċatta;
  - jew bl-użu ta' shaker li jvibra għall-pjanċi tal-mikrotrazzjoni (per eżempju 1300 rpm għal 10 sekondi).
- Imbagħad halli l-pjanċa ma tiċċaqlaq, protetta minn kwalunkwe vibrazzjoni.

- Aqra r-reazzjoni sagħtejn wara.

### 9.3 - Assorbiment ta' agglutinini naturali kontra n-nagħaġ fil-każ ta' agglutinazzjoni tal-kontrolli tas-serum

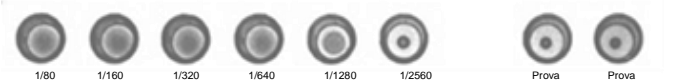
- Hawwad ir-reagent sewwa **R3**.
- Qassam f'tubu u hallat:
  - 0.1 mL ta' serum;
  - 0.3 mL ta' reagent **R3**.
- Halli jinkisbu għal 60 minuta f'temperatura tal-ambjent.
- Iċċentrifuga f2000 rpm għal 15-il minuta.
- Igħor is-supernatant; is-serum imbagħad jiġi dilwit għal 1/4.
- Iddilwa s-supernatant 1/10 fir-reagent **BUF** biex tikseb dilwizzjoni stokk (1/40) adsorbita.
- Irrepeti l-protokoll għal "Twettiq tat-test fuq microplate" billi tissostitwixxi d-dilwizzjoni tal-istokk bid-dilwizzjoni tal-istokk adsorbit.

### 10 - QAR

**Reazzjoni negattiva:**Nuqqas ta' emagglutinazzjoni.  
Preżenza ta' ċirku xi fit jew wisq wiesa' fil-qiegħ tat-tazza.

**Reazzjoni pożittiva:**Preżenza ta' emagglutinazzjoni.  
Preżenza ta' velu ahmar/kannella li jgħatti t-tazza; kultant, preżenza ta' burdura perferali fina.

Eżempju: Serum pożittiv f1/1280



### 11 - INTERPRETAZZJONI TAR-RIŻULTATI

**Titulu < 1/160:** Reazzjoni insinifikanti ta' infezzjoni attiva.  
Jista' jikkorrispondi għal infezzjoni antika jew ittrattata.  
Gedded it-test 2 sa 3 ġimgħat wara u għaqqad elettrosinerezi jew immunoeletroforesi.

**Titru ≥ 1/160:** Reazzjoni sinifikanti.  
Preżunzjoni ta' infezzjoni evolutiva.

### 12 - KONTROLL INTERN TAL-KWALITÀ

Ir-reagenti **CONTROL+** u **CONTROL-** għandhom jigu ttrattati bħas-serums li għandhom jigu analizzati. It-titru tar-reagent **CONTROL+** għandu jkun ugwali għat-titru ddikjarat fuq it-tikketta tal-kunjett f± dilwizzjoni waħda. Ir-reagent **CONTROL-** irid juri nuqqas ta' emagglutinazzjoni. Jekk le, it-test ikun invalidu.

### 13 - KAWŻI TA' ŻBALJI U LIMITAZZJONIJIET TAT-TEST

- Konservazzjoni hażina tas-serum.
- Konservazzjoni hażina tar-reagenti wara l-ftuħ.
- Uża biss il-qattara pprovduti fil-kaxxa.
- Tibdelx il-qattara bejn ir-reagenti **R1** u **R2**.
- Fil-każ ta' reazzjoni pożittiva fl-ewwel 6 tazzi, kompli d-dilwizzjonijiet biex issib it-titru ta' emagglutinazzjoni tal-limiti.
- Il-kontroll tas-serum għandu jagħti reazzjoni negattiva (ċirku). Fil-każ ta' emagglutinazzjoni ta' dan il-kontroll, huwa meħteġ li jiġi ripetut it-test wara li jkunu eliminati l-agglutinini naturali kontra n-nagħaġ mis-serum permezz ta' adsorbiment.
- Il-kontroll tar-reagent għandu jagħti reazzjoni negattiva (ċirku). Fil-każ ta' emagglutinazzjoni ta' dan il-kontroll, ir-reagent **ELI.HA schistosoma** ma jistax jintuża.
- Ċerti serums, li l-konċentrazzjoni ta' antikorpi tagħhom hija għolja hafna, jistgħu jagħtu lok għal fenomenu ta' żona (b'reazzjoni tal-velu) fl-ewwel dilwizzjonijiet, li tisparixxi f'id-dilwizzjonijiet li jsewgu.

- I-kwalità tar-reagenti tagħmilha possibbli li titwettag ir-reazzjoni filgħajja u li jisir il-qari l-għada filgħodu, sakemm il-microplate ma tkun sugġetta għall-ebda moviment u jkun protet mill-vibrazzjonijiet.
- Fil-każijiet kollha u qabel l-istabbiliment tad-dijanjosi finali, l-interpretazzjoni tat-test għandha titwettag billi tigi integrata d-data klinika, epidemjoloġika u bijoloġika kollha u r-riżultati tat-testijiet l-oħra.

### 14 - PRESTAZZJONI

**ELI.HA *Schistosoma*** tikkonsisti minn ċelluli homor tad-demmm sensitizzati minn antiġen *Schistosoma mansoni* ippurifikata hafna, li jiżgura sensitività u speċifiċità għal din ir-reazzjoni ta' emagglutinazzjoni indiretta.  
L-evalwazzjonijiet tal-prestazzjoni relatati ma' 63 serum pożittiv (sa *Schistosoma haematobium* u *mansoni*) u 56 serum negattiv juru sensitività ta' 85.7% u speċifiċità ta' 98.2%.

### 15 - RIMI TA' SKART

L-iskart għandu jintrema skont ir-regoli u r-regolamenti tal-iġjene fis-sehh għal dan it-tip ta' prodott fil-pajjiż tal-użu. F'każ ta' tixrid aċċidentali ta' reagent **BUF**, naddaf il-worktop b'karta assorbenti u laħlah bl-ilma. Jekk is-serum jew reagent iehor ikun imxerred, naddaf bil-bliċ u xugaman tal-karti.

### 16 - BIBLIOGRAFIJA

- S. HOSHINO, M.-E. CAMARGO, L.-C. DA SILVA - Standardization of a haemagglutination test for schistosomiasis with formalin-treated human erythrocytes [Standardizzazzjoni ta' test ta' emagglutinazzjoni għal schistosomiasis b'entrociti umani ttrattati bil-formalina] - The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, Vol. 19, Nru3, 463/470.
- A. CAPRON, J. BIGUET, P. TRAN VAN KY, Y. MOSCHETTO - Immunological studies in various types of schistosomiasis [Studji immunoloġiċi f'diversi tipi ta' schistosomiasis] - Dipartiment tal-Parasitoloġija, Fakultà tal-Medicina, Università ta' Lille, Lille, Franza.
- 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 [Applikazzjoni tar-reazzjoni ta' emagglutinazzjoni passiva għad-dijanjosi seroloġika ta' schistosomiasis ikkawżata minn Schistosoma mansoni] - Bull. Organ. Mond. Santé, 1976, Vol. 54, 695/702.
- L. AHMED, A. DODIN - Valeur de la réaction d'hémagglutination passive dans la bilharziose [Valur tar-reazzjoni ta' emagglutinazzjoni passiva fi schistosomiasis] - Bulletin de la société de Pathologie Exotique, 1977, Nru 5, 485/489.
- CET P. AMBROISE-THOMAS, R. GRILLOT - L'hémagglutination indirecte dans le diagnostic des bilharzioses [L-emagglutinazzjoni indiretta fid-dijanjosi ta' schistosomiasis.] Comparaison à l'immuno-fluorescence indirecte dans l'étude de 3624 sérum humains [Tqabbil mal-immunofluworexxenza indiretta fl-istudju ta' 3624 serum uman] - Bulletin de la société de Pathologie Exotique, 1980, Nru3, 277/288.
- P. WATTRE, M. CAPRON, J.-P. DESSAINT, A. CAPRON - Apport de l'immunologie au diagnostic et au traitement des maladies parasitaires - Immunologie (I) [Kontribuzzjoni tal-immunoloġija għad-dijanjosi u t-trattament mard parassitiku - Immunoloġija] - R.P., 1980, 30, 15.

