

# ELI.HA *Schistosoma*

## Serodiagnose av bilharziasis av indirekte hemagglutinasjon

120 tester  
(Ref. 66600)

8000120-NO-2018-10



### 1 - MÅL

ELI.HA *Schistosoma* tillater kvantitativ bestemmelse ved indirekte hemagglutineringsSerumantistoffer hos pasienter med bilharziasis *Schistosoma mansoni* (intestinal lokalisering) og *Schistosoma hematobium* (urinsted). Settett gjør det mulig å utføre 120 tester eller 20 reaksjoner med 6 fortyntninger.

### 2 - INNLEDNING

Bilharzia, eller schistosomiasis, er en gruppe av parasittiske sykdommer forårsaket av usegmenterte flatorm i slekten *Schistosoma*.

Voksne ormer fremkaller progressiv oppstart av immunitet. Egg er patogen av sykdommen. Smitten finner sted i tre påfølgende faser: forurensning - invasjon - tilstand.

Diagnosen bilharziasis kan bekrefte ved påvisning av egg, som ikke kan oppdages før "tilstand" -fasen. Parasittisk immunologisk diagnose er derfor viktig i begynnelsen av sykdommen.

### 3 - PRINSIPP

ELI.HA *Schistosoma* er basert på prinsippet om indirekte hemagglutinerings. Røde blodlegemer sensibilisert er røde blodceller fra sau dekket med antigen *Schistosoma mansoni*. Tilstedeværelsen av spesifikke serumantistoffer forårsaker agglutinerings av sensibiliserte røde blodlegemer, noe som resulterer i et rødt / brun slør som forer koppen. I fravær av spesifikke antistoffer sedimenterer disse røde celler i bunnen av koppen i form av en ring. De ikke-sensibiliserte røde blodcellene sikrer reaksjonens spesifisitet og gjør det mulig å eliminere interferens på grunn av naturlige anti-sau-agglutininere (Forssman heteroantistoffer, infeksiose mononukleoseantistoffer, etc.).

Reaksjonen utføres i en U-bunnmikroplate.

Håndteringen er enkel og rask. Resultatene oppnås om 2 timer.

### 4 - REAGENSER OG UTSTYR

Beskrivelse	Kvantum
<b>R1</b> :flaske 2,4 ml sensibiliserte røde blodlegemer	1
<b>R2</b> :1 ml hetteglass med ikke-sensibiliserte røde blodlegemer	1
<b>BUF</b> :55 ml flaske pH 7,2 fosfatbuffer	1
<b>R3</b> :2 ml flaske adsorbent	1
<b>KONTROLL +</b> :Flaske med 0,2 ml positiv kontroll titret til	1
<b>KONTROLL -</b> :flaske 0,2 ml negativ kontroll	1
<b>MICORPLATE</b> :U-formet mikroplate	2
<b>DRÅPETELLER</b> :spesiell dråpeteller	2

### 5 - FORSIKTIGHET VED BRUK

- Reagenser er kun ment for diagnose *in vitro* og må håndteres av kvalifisert personell. Testene er kun til engangsbruk.
- Alle reagenser unntatt reagens **BUF**, inneholder stoffer av animalsk opprinnelse og skal håndteres med de vanlige forholdsregler.
- Prøverne er potensielt smittsomme. Prøverne er potensielt smittsomme, de må håndteres med de vanlige forholdsregler i henhold til hygienevilkårene og gjeldende bestemmelser i brukerlandet.
- Ampuller **KONTROLL** inneholder natriumazide (konsentrasjon < 0,1 %).
- Ikke bruk reagenser utover utløpsdatoen.
- Ikke bruk reagenser fra forskjellige leveranser.
- Vent til serum og reagenser er ekvilibret ved romtemperatur.
- Rist reagensene grundig **R1** og **R2** før bruk.
- Ved dispensering av reagenser **R1** og **R2**, sørg for at dråpetelleren er perfekt vertikal. Kontroller at det ikke er luftbobler i dråpene, slik at volumene som leveres er konstant.

### 6 - SAMLING OG BEHANDLING AV PRØVER

Bruk friskt eller konserveret serum ved -20 ° C uten hemolyse eller forurensning.

Unngå gjentatt frysing og tining.

Ikke dekomplementer serumet.

### 7 - BEVARING OG TILBEREDNING AV

REAGENSERReagensene er klare til bruk.

Alle reagenser lagret ved 2-8 ° C er stabile til utløpsdatoen som er angitt på settet. De må ikke fryses.

### 8 - MATERIALER BESTILT, MEN IKKE LEVERT

- Automatisk pipette (r) med pipetteringsvolum tilpasset mengden som skal måles;
- Beholdere for forurenset avfall;
- Sentrifuge;
- Hemolyse rør.

### 9 - OPERATIV MODUS

Ekvilibrere reagensene ved romtemperatur før bruk.

#### 9.1 - Fremstilling av prøven

Fortynn testserumet til 1/40:

- 50 µl serum;
- 1,95 ml reagens **BUF**.

#### 9.2 - Utføre mikroplate testen

- Bruk en flerkanals mikropipette, dispens 50 µL reagens **BUF** i 8 brønner av mikroplaten.

- Bruk en mikropipett, dispens 50 µL av det fortyntede serum i 1<sup>st</sup>a kopp. Bland med reagens **BUF** og overfør, fortrinnsvis ved bruk av en mikroforyntningsmiddel ("tulipan"), 50 µl av 1 kopp i 2<sup>de</sup>, fra 2<sup>de</sup> i 3<sup>de</sup>, og så videre til 6<sup>de</sup> kopp, avviser 50 µl av 6<sup>de</sup> kopp. 1/80 til 1/2560 fortyntninger oppnås således.

- Fordel 50 µL av det fortyntede serum i 7<sup>de</sup> kopp.

Bland med reagens **BUF** og avvis 50 µL.

Denne fortyntningen (1/80) er serumkontrollen, hvis rolle er å oppdage naturlige anti-sau-agglutininere som kan inneholde noen sera.

- Rist reagensene grundig **R1** og **R2**.

- Sett inn 1 dråpe reagens **R1** i de første 6 koppene.
- Sett inn 1 dråpe reagens **R2** i 7<sup>de</sup> kopp (serumkontroll).
- Sett inn 1 dråpe reagens **R1** i 8<sup>de</sup> kopp (reaktiv kontroll) hvis rolle er å kontrollere gyldigheten av bufferen og sensibiliserte røde blodlegemer.

Merk: Gjør kun en reaktiv kontroll per testkjøring.

- Homogeniser svært nøye innholdet i koppene:
  - enten manuelt ved siden av å tappe på sidene av mikroplaten, lagt flat;
  - enten ved å bruke en risteromrører for mikrotiteringsplater (for eksempel 1300 omdreininger / minutt i 10 sekunder). Ikke bruk en orbital shaker.
- La platen fortsatt være beskyttet mot vibrasjon.
- Les reaksjonen 2 timer senere.

### 9.3 - Adsorpsjon av naturlige anti-sauagglutininere ved agglutinerings av serumkontrollen

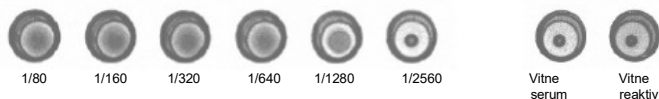
- Rist reagenset grundig **R3**.
- Fordel i et rør og bland:
  - 0,1 ml serum;
  - 0,3 ml reagens **R3**.
- Inkuber i 60 minutter ved romtemperatur.
- Sentrifuger ved 2000 rpm i 15 minutter.
- Samle supernatanten; serumet fortyntnes deretter 1/4.
- Fortynn supernatanten 1/10 i reagens **BUF** for å oppnå en maternell fortyntning (1/40) adsorbent.
- Gjenta "Microplate Assay" -protokollen ved å bytte ut fortyntningen med den adsorberte lagerfortyntningen.

### 10 - LESING

**Negativ reaksjon:** Fravær av hemagglutinasjon. Tilstedeværelse av en ring mer eller mindre bred på bunnen av koppen.

**Positiv reaksjon:** Nærvær av hemagglutinasjon. Tilstedeværelse av et rødt / brunt slør som forer koppen; Noen ganger er det en fin perifer grense.

Eksempel: Serum positivt ved 1/1280



### 11 - TOLKNING AV RESULTATENE

**Titre < 1/160 :** Ikke-signifikant reaksjon på en infeksjon i utvikling. Kan være en gammel eller behandlet infeksjon. Fornyetesten 2 til 3 uker senere og kombinere electrosynérèse eller immunoelektroforese.

**Titre ≥ 1/160:** Reaksjon vesentlig. Forutsetning om progressiv infeksjon.

### 12 - INTERN KVALITETSKONTROLL

Reagensene **KONTROLL+** og **KONTROLL-** må behandles som serum for analyse. Reagens tittel **CTRL +** må være lik tittelen angitt på hetteglasset med ± 1 fortyntning. Reagens **kontroll-** må ha et fravær av hemagglutinasjon. Hvis dette ikke er tilfelle, er testen ikke gyldig.

### 13 - FEILÅRSAKER OG GRENSER FOR PRØVER

- Dårlig oppbevaring av serumet.
- Feil lagring av reagenser etter åpning.
- Bruk bare dråpetellerne som følger med i esken.
- Ikke utveksle dråpetellere mellom reagenser **R1** og **R2**.
- I tilfelle en positiv reaksjon i de første 6 koppene, fortsett fortyntningene for å finne grensehemagglutineringsstøtteren.
- Serumkontrollen skal gi en negativ reaksjon (ring). I tilfelle haemagglutinasjon av denne kontrollen, er det nødvendig å gjenta testen etter å ha eliminert de naturlige anti-sau-agglutininere fra serumet ved adsorpsjon.
- Den reaktive kontrollen må gi en negativ reaksjon (ring). I tilfelle haemagglutinasjon av denne kontrollen, kan ikke reagens **ELI.HA Schistosoma** brukes.
- Noen sera, hvis antistoffkonsentrasjon er svært høy, kan gi opphav til et sonefenomen (med tilbaketrekking av sløret) i de første fortyntninger, som forsvinner i de følgende fortyntninger.
- Kvaliteten på reagensene gjør det mulig å utføre reaksjonen om kvelden og å utføre lesingen neste morgen, fortsatt at mikroplaten ikke undergår noen forskyvning og er immun mot vibrasjoner.
- I alle tilfeller og før den endelige diagnosen er utført, må tolkningen av testen utføres ved å integrere alle kliniske data og resultatene fra andre tester.

### 14 - YTELSER

ELI.HA *Schistosoma* består av røde blodlegemer sensibilisert med et antigen *Schistosoma mansoni* høyt renset, noe som sikrer sensitivitet og spesifisitet til denne hemagglutineringsreaksjonen indirekte.

Ytelseevalueringen av 63 positive sera (*Schistosoma hematobium* og *mansoni*) og 56 negative sera viste sensitivitet på 85,7% og en spesifisitet på 98,2%.

### 15 - AVHENDING AV AVFALL

Avfall skal kastes i henhold til de hygieniske regler og forskrifter som gjelder for denne typen reagenser i brukerlandet.

Ved utilsiktet betaling av reagens **BUF**, rengjør arbeidsflaten med absorberende papir og skyl med vann. Hvis du har serum eller annen reagens, rengjør du med blekemiddel og papirhåndklær.

### 16 - REFERANSER

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 schistosomiasis 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 bilharziozes. 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.

### ELITech MICROBIO

Parc d'Activités du Plateau  
19 Allée d'Athènes  
83870 SIGNES  
FRANCE  
☎ : 04 94 88 55 00  
☎ : 04 94 32 82 61

