

ELI.H.A *Schistosoma* / ELI.H.A Şistozomiyaz

Şistozomiyaz serodiagnozu için indirekt hemaglütinasyon testi

120 test
(Ref. 66600)

8000120-TR-2018-10

Yalnızca *in vitro* diagnostik kullanım içindir, sadece profesyonel kullanım içindir.
Tek kullanımlık testler.



1 - AMAC

ELI.H.A *Şistozomiyaz*, *Şistozoma mansoni* (bağırsak), *Şistozoma hematobium* (üriner) ve *Şistozoma intercalatum* (rektal) hastalarından alınan serum antikorlarının indirekt hemaglütinasyon testi yoluyla nicel olarak belirlenmesi sağlanır. Her bir kit, 120 test veya 6 dilüsyondan 20 reaksiyon gerçekleştirilmesini mümkün kılar.

2 - GİRİŞ

Bilharyaz veya şistozomiyaz, *Şistozoma* türündeki bölümlere ayrılmamış yassı asalak solucanların neden olduğu bir grup paraziter hastalıkları temsil eder. Yetişkin solucanların varlığında, bağırsıklık kademeli olarak kazanılır. Yumurtalar hastalığın patojen elementidler. Hastalık birbirini takip eden üç aşamada ilerler: kontaminasyon - enfestasyon - hastalık durumu.

Bilharyaz tanısı yumurta teşhisi ile konulabilir, ancak yumurtalar "hastalık durumu" aşamasından önce tespit edilemezler. Dolayısıyla antikorların tespiti yoluyla immünolojik tanı, bu hastalığın ilk aşamalarında esastır.

3 - USUL

ELI.H.A *Şistozomiyaz* indirekt hemaglütinasyon testi usulünü baz olarak alır. Koyun eritrositleri, *Şistozoma mansoni* antijeni ile hassaslaştırılır. Serumda spesifik antikorların varlığı tespit edilirse, hassaslaştırılmış eritrositler kuyucuk dibinde kırmızı/kahverengi bir tabaka oluşturacak şekilde ağıltıne olur. Spesifik antikor yokluğunda ise bu eritrositler ağıltıne olmaz ve kuyucukun dibinde halka benzeri bir tortu oluşmasına neden olur. Hassaslaştırılmamış eritrositler, reaksiyonun spesifikliğini sağlar ve doğal anti-koyun ağıltıninlerine (Forssman heteroantikorları, infeksiyöz mononükleoz antikorları vs.) bağlı karışıklıkların ortadan kaldırılmasını mümkün kılar. Reaksiyon bir U-mikroplakada gerçekleştirilir. İşlem hızlı ve kolaydır. Sonuçlar 2 saat içinde alınır.

4 - REAKTİFLER VE MALZEME

Tanım	Miktar
R1: 2,4 mL hassaslaştırılmış eritrosit viyali	1
R2: 1 mL hassaslaştırılmamış eritrosit viyali	1
BUF: 55 mL fosfat tamponu pH 7.2 viyali	1
R3: 2 mL adsorban viyali	1
CONTROL + : 0,2 mL titre edilmiş pozitif kontrol viyali	1
CONTROL - : 0,2 mL negatif kontrol viyali	1
MİKROPLAKA: U-mikroplaka	2
DAMLALIK: özel damlalık	2

5 - KULLANIM ÖNLEMLERİ

- Reaktifler yalnızca *in vitro* tanı amaçlı kullanım içindir ve yetkili kişiler tarafından uygulanmalıdır. Testler tek kullanımlıktır.
- **BUF** reaktifi hariç tüm reaktifler, hayvansal kökenli maddeler içerir ve olağan önlemlerle kullanılmalıdır.
- Örneklerin bulaşıcı olma olasılığı vardır. Hijyen kurallarına ve kullanıldığı ülkede yürürlükte olan yönetmeliklere uyularak olağan önlemlerle uygulanmalıdır.
- **CONTROL** viyalleri sodyum azid içerir (konsantrasyon < %0.1).
- Reaktifleri son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- Farklı partilerden reaktifler kullanmayın.
- Serum ve reaktiflerin oda sıcaklığına gelmesini bekleyin.
- Kullanmadan önce **R1** ve **R2** reaktifleri iyice çalkalayın.
- **R1** ve **R2** reaktifleri dağıtırken damlalığın tamamen dikye olduğundan emin olun. Hacimleri sabit olması için damlalarda hava kabarcığı olmadığını kontrol edin.

6 - ÖRNEKLERİN TOPLANMASI VE İŞLENMESİ

Taze veya - 20°C'de saklanan ve hemoliz, bulanıklık veya kontaminasyon göstermeyen serumlar kullanılır.

Tekrar tekrar dondurup çözdüremekten kaçının. Serumu dekomplemente etmeyin.

7 - REAKTİFLERİN SAKLANMASI VE HAZIRLANMASI

Tüm reaktifler kullanıma hazırdır. Orijinal durumlarında 2-8°C'de saklanan reaktifler, kit üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir. Dondurmayın.

8 - GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MATERYALLER

- Ölçülecek miktara göre uyarlanmış pipetleme hacmine sahip otomatik pipet(ler);
- Kontamine atık kapları;
- Santrifüj
- Hemoliz tüpleri.

9 - UYGULAMA ŞEKLİ

Kullanımdan önce reaktifleri oda sıcaklığına getirin.

9.1 - Numunenin hazırlanması

Test edilecek serumu 1/40'a kadar seyreltin:

- 50 µL serum;
- 1,95 mL **BUF** reaktifi.

9.2 - Testin mikropilaka üzerinde uygulanışı

- Çok kanallı mikropipet kullanarak mikropilakin 8 kuyucuğuna 50'şer µl **BUF** reaktifini koyun.

- Bir mikropipet kullanarak, seyreltilmiş 50 µL serumu 1' kuyucuğaya dağıtın. **BUF** reaktifi ile karıştırın ve terchen bir mikro seyreltici ("lale") kullanarak, kuyucuk içeriğinin 50 µl'sini 1' kuyucuktan 2'ye, 2'den 3'ye aktarın ve bu işlemi 6' kuyucuğaya kadar devam ettirin ve 6' kuyucuğun içeriğinin 50 µl'sini dışarı atın. Böylelikle 1/80 ila 1/2560'luk dilüsyonlar elde edilir.

- 7' kuyucuğaya 50 µl serum stok dilüsyonu ekleyin.

BUF reaktifi ile karıştırın ve 50 µl dışarı atın.

Bu 1/80'lük dilüsyon, bazı serum örneklerinde bulunabilen doğal anti-koyun ağıltıninlerini saptayabilmek amacıyla serum kontrolü olarak kullanılır.

- **R1** ve **R2** reaktifleri dikkatlice çalkalayın .

- İlk 6 kuyucuğaya 1'er damla **R1** reaktifi ekleyin.
- Serum kontrol kuyucuğaya olan 7. kuyucuğaya 1 damla **R2** reaktifi koyun.
- Tampon ve duyarlılaştırılmış eritrositlerin kullanılabilirliğini kontrol etmek amacıyla 8. kuyucuğaya (ayrıca kontrol kuyucuğuşu) 1 damla **R1** reaktifi koyun.

Not: Her mikropilak için sadece bir kuyucuk ayrıca kontrolü olarak kullanılır.

- Kuyucuk içeriklerini dikkatlice homojenize edin:
 - ya yere paralel tutulan mikropilakin kenarlarına hafifçe vurarak, manuel olarak;
 - ya da mikrotitre plakalar için titreşimli bir karıştırıcı kullanarak (örneğin 10 saniye boyunca 1300 devir / dakika). Orbital karıştırıcı kullanmayın.
- Sonrasında plak titreşimsiz, düz bir zemin üzerine yerleştirilerek hareketsiz kalmasını sağlayın.

- Reaksiyonu 2 saat sonra okuyun.

9.3 - Serum kontrolünün ağıltınasyonu durumunda doğal anti-koyun ağıltıninlerinin adsorpsiyonu

- **R3** reaktifi dikkatlice çalkalayın.
- Bir tüpe koyun ve karıştırın:
 - 0,1 mL serum;
 - 0,3 mL **R3** reaktifi.
- Oda sıcaklığında 60 dakika inkübe edin.
- 2000 rpm'de 15 dakika santrifüjleyin.
- Süzüntüyü toplayın; serum 1/4 oranında seyreltilmiştir.
- Adsorbe edilmiş bir stok dilüsyonu (1/40) elde etmek için **BUF** reaktifine süzüntüyü 1/10 oranında seyreltin.
- Stok dilüsyonunu adsorbe edilmiş stok dilüsyonu ile değiştirerek "Testin mikropilaka üzerinde uygulanışı" protokolünü tekrarlayın.

10 - SONUÇLARIN OKUNMASI

Negatif reaksiyon: Hemaglütinasyon eksikliği.
Kuyucuk dibinde küçük veya büyük çaplı daire şeklinde çökelti varlığı.

Pozitif reaksiyon: Hemaglütinasyon varlığı.
Kuyucuk dibinde kırmızı/kahverengi bir tabaka varlığı; bazen de ince bir periferel hattın varlığı.

Örnek: 1/1280'de serum pozitif



11 - SONUÇLARIN YORUMLANMASI

Titre < 1/160 : Aktif bir enfeksiyonun önemsiz reaksiyonu.
Eski veya tedavi edilmiş bir enfeksiyona karşılık gelebilir. Testi, 2 ila 3 hafta sonra tekrarlayın ve bir elektrosinerez veya immünoelektroforez ile birleştirin.

Titre ≥ 1/160 : Önemli reaksiyon.
Aktif enfeksiyon varsayımı.

12 - DAHİLİ KALİTE KONTROLÜÇ CONTROL+ ve CONTROL- reaktifleri analiz edilecek serum olarak ele alınmalıdır. **CONTROL+** reaktifli titres, flakon etiketinde belirtilen titreye ± bir dilüsyon ile eşit olmalıdır. **CONTROL-** reaktifli hemaglütinasyon yokluğu göstermelidir. Böyle değilse, test geçersizdir.

13 - HATA NEDENLERİ VE TESTİN SINIRLAMALARI

- Serumun uygun olmayan koşullarda muhafaza edilmesi.
- Reaktiflerin açıldıktan sonra uygun olmayan koşullarda muhafaza edilmesi.
- Yalnızca kutu içinde verilen damlalıkları kullanın.
- **R1** ve **R2** reaktifleri arasında damlalıkları değiştirirmeyin.
- İlk 6 kuyucukta pozitif reaksiyon olması durumunda, limit hemaglütinasyon titresini bulmak için dilüsyonları sürdürün.
- Kontrol serumu negatif reaksiyon (halka) vermemelidir. Bu kontrolün hemaglütinasyonu durumunda, doğal anti-koyun ağıltıninleri adsorpsiyon yoluyla serumdan elimine edildikten sonra testi tekrarlamak gerekir.
- Ayrıca kontrolü negatif reaksiyon (halka) vermemelidir. Bu kontrolün hemaglütinasyonu durumunda **ELI.H.A Şistozomiyaz** reaktifi kullanılamaz.
- Antikor konsantrasyonunun çok yüksek olduğu belirli serumlarda, ilk dilüsyonda bir prozon fenomenine (açılınca) yol açabilir ve sonraki dilüsyonlarda kaybolabilir.
- Reaktiflerin kalitesi, mikropilakanın herhangi bir harekete maruz kalmaması ve titreşimlerden korunması koşuluyla, reaksiyonun akşam yürütülmesini ve ertesi sabah okumayı mümkün kılar.
- Her durumda ve kesin tanı koyulmadan önce, testin yorumlanması, tüm klinik, epidemiyolojik ve biyolojik veriler ile diğer testlerin sonuçları birleştirilerek yapılmalıdır.

14 - PERFORMANSLAR

ELI.H.A Şistozomiyaz bu indirekt hemaglütinasyon reaksiyonuna duyarlılık ve özgüllük sağlayan yüksek oranda safılaştırılmış *Şistozomiyaz mansoni* antijeni tarafından hassaslaştırılmış eritrositlerden oluşur.

63 pozitif serumla ilgili performans değerlendirmeleri (*Schistosoma haematobium* ve *mansoni*) ve 56 negatif serum %85,7duyarlılık ve %98,2 özgüllük gösterir.

15 - ATIKLARIN İMHASI

Atıklar, kullanım ülkesindeki bu gibi reaktifler için geçerli olan hijyen kurallarına ve yönetmeliklerine uygun olarak bertaraf edilmelidir. **BUF** reaktifinin kazara dökülmesi durumunda, çalışma yüzeyini emici kağıtla temizleyin ve su ile durulayın. Serum veya başka bir reaktifin dökülmesi halinde, javel suyu ve emici kağıt ile temizleyin.

16 - KAYNAK DİZİNİ

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 (Amerikan Tropikal Tıp ve Hijyen Dergisi), Cilt. 19, No. 3, 463/470.
2. A. CAPRON, J. BIGUET, P. TRAN VAN KY, Y. MOSCHETTO - Immunological studies in various types of schistosomiasis - Parazitoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi, Lille Üniversitesi, Lille, Fransa.
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, Cilt. 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 (Egzotik Patoloji Derneği Bülteni), 1977, No. 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 sérum humains - Bulletin de la société de Pathologie Exotique, 1980, No. 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.

Önceki sürümdeki değişiklikler gri renkte vurgulanır

ELITech MICROBIO

Parc d'Activités du Plateau

19 Allée d'Athènes

83870 SIGNES

FRANSA

☎ +33 (0)4 94 88 55 00

Faks: +33 (0)4 94 32 82 61

