

# ELI.H. A Amoeba

## Serodiagnose der Amöbiasis durch indirekte Hämagglutination

120 Tests  
(Artnr. 66602)

8000100-DE-2012-05

Nur zur *in vitro*-Diagnose bestimmt, nur für professionelle Anwendung.  
Einweg-Tests.



### 1 - ZIEL

ELI.HA Amoeba ermöglicht die quantitative Bestimmung von Serumantikörpern gegen *Entamoeba histolytica* durch indirekte Hämagglutination.

Mit dem Kit können 120 Tests oder 20 Reaktionen mit 6 Verdünnungen durchgeführt werden.

### 2 - EINLEITUNG

Amöbiasis oder Entamoebiasis ist eine parasitäre Erkrankung aufgrund eines bestimmten Protozoen beim Menschen: *Entamoeba histolytica*. Es ist die einzige humanpathogene Amöbe. Die Serodiagnose macht es möglich, die Leber- und Lungenamöbiasis zu bestätigen.

### 3 - PRINZIP

ELI.HA Amoeba basiert auf dem Prinzip der indirekten Hämagglutination. Die sensibilisierten roten Blutkörperchen bestehen aus roten Blutkörperchen von Schafen, die mit dem löslichen Antigen *Entamoeba histolytica* beschichtet sind. Das Vorhandensein von Serumantikörpern gegen *Entamoeba histolytica* bewirkt, dass sensibilisierte rote Blutkörperchen zusammenklumpen, was zu einem roten/braunen Schleier führt, der die Vertiefung bedeckt. In Abwesenheit spezifischer Antikörper setzen sich diese roten Blutkörperchen in Form eines Rings am Boden der Vertiefung ab.

Die nicht sensibilisierten roten Blutkörperchen liefern die Spezifität der Reaktion und ermöglichen die Beseitigung der Interferenzen durch natürliche Anti-Schaf-Agglutinine (Forssman-Hetero-Antikörper, Antikörper gegen infektiöse Mononukleose usw.).

Die Reaktion findet in einer U-förmigen Mikrotiterplatte statt.

Die Handhabung ist schnell und einfach. Die Ergebnisse werden in nur 2 Stunden erhalten.

### 4 - REAGENZEN UND MATERIAL

Beschreibung	Anzahl
<b>R1:</b> 2,4-ml-Durchstechflasche mit sensibilisierten roten Blutkörperchen	1
<b>R2:</b> 1-ml-Durchstechflasche mit nicht-sensibilisierten roten Blutkörperchen	1
<b>BUF:</b> Durchstechflasche mit 55 ml Phosphatpuffer, pH 7,2	1
<b>R3:</b> Durchstechflasche mit 2 ml Adsorbens	1
<b>CONTROL +:</b> 0,2-ml-Durchstechflasche mit titrierter Positivkontrolle	1
<b>CONTROL -:</b> 0,2-ml-Durchstechflasche mit Negativkontrolle.	1
<b>MIKROPLATTE:</b> U-förmige Mikrotiterplatte	2
<b>TROPFER:</b> spezieller Tropfer	2

### 5 - VORSICHTSMASSNAHMEN BEI DER ANWENDUNG

- Reagenzien sind nur zur *in vitro*-Diagnose bestimmt und sollten von autorisiertem Personal behandelt werden.
- Die Tests sind für den einmaligen Gebrauch bestimmt.
- Alle Reagenzien außer dem Reagenz **BUF**, enthalten Substanzen tierischen Ursprungs und sollten mit Vorsicht behandelt werden.
- Die Proben sind möglicherweise ansteckend. Sie müssen mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und in Übereinstimmung mit den Hygienevorschriften des Verwendungslandes behandelt werden.
- Die Reagenzien enthalten Natriumazid (Konzentration <0,1 %).
- Verwenden Sie keine Reagenzien nach dem Verfallsdatum.
- Verwenden Sie keine Reagenzien aus verschiedenen Chargen.
- Warten Sie, bis das Serum und die Reagenzien Raumtemperatur erreicht haben.
- Schütteln Sie die Reagenzien **R1** und **R2** vor Gebrauch vorsichtig.
- Bei der Verabreichung von Reagenzien **R1** und **R2** muss vorab sichergestellt sein, dass der Tropfer perfekt senkrecht steht. Stellen Sie sicher, dass sich keine Luftblasen in den Tröpfchen befinden, damit die abgegebenen Mengen konstant sind.

### 6 - SAMMLUNG UND VERARBEITUNG VON PROBEN

Verwenden Sie frische Seren oder Seren, die bei -20 ° C gelagert wurden und keine trübe Hämolyse oder Kontamination aufweisen.

Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

Teilen Sie das Serum niemals in seine einzelnen Bestandteile.

### 7 - LAGERUNG UND ZUBEREITUNG VON REAGENZEN

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Alle bei 2-8°C gelagerten Reagenzien sind bis zum auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum stabil. Sie dürfen nicht eingefroren werden.

### 8 - ERFORDERLICHES, ABER NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIAL

- Automatische Pipette(n) mit einem an die zu messende Menge angepassten Pipettivolumen;
- Behälter für kontaminiertes Abfallmaterial;
- Zentrifuge;
- Hämolyseröhrchen.

### 9 - VORGEHENSWEISE

Lassen Sie die Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur kommen.

#### 9.1 - Vorbereitung der Probe

Verdünnen Sie das zu testende Serum auf 1/40:

- 50 µl Serum;
- 1,95 ml Reagenz **BUF**.

#### 9.2 - Durchführung des Tests auf Mikrotiterplatte

- Übertragen Sie mit einer Mehrkanal-Mikropipette 50 µl Reagenz **BUF** in 8 Vertiefungen der Mikrotiterplatte.

- Übertragen Sie mit einer Mikropipette 50 µl des verdünnten Serums in die erste Vertiefung.

Mit dem Reagenz **BUF** mischen und vorzugsweise mit Hilfe eines „tulpenförmigen“ Mikroverdünners 50 µl der ersten Vertiefung in die zweite Vertiefung, von der zweiten Vertiefung in die dritte Vertiefung und so weiter bis zur sechsten Vertiefung übertragen, wobei 50 µl der sechsten Vertiefung weggeworfen werden.

Dies führt zu Verdünnungen von 1/80 bis 1/2560.

- Übertragen Sie 50 µl des verdünnten Serums auf die siebte Vertiefung. Mit dem Reagenz **BUF** mischen und 50 µl wegwerfen.

Diese Verdünnung (1/80) stellt die Serumkontrolle dar, deren Aufgabe es ist, die natürlichen Anti-Schaf-Agglutinine nachzuweisen, die bestimmte Seren enthalten können.

- Schütteln Sie die Reagenzien **R1** und **R2** vorsichtig.

- Übertragen Sie einen Tropfen des Reagens **R1** in die ersten 6 Vertiefungen.
- Übertragen Sie einen Tropfen des Reagens **R2** in die siebte Vertiefung (Serumkontrolle).
- Übertragen Sie einen Tropfen des Reagens **R1** in die achte Vertiefung (Reagenzienkontrolle), die dazu dient, die Gültigkeit des Reagenzes **BUF** und des Reagenzes **R1** zu überprüfen.

Hinweis: Führen Sie nur eine Reagenzienkontrolle pro Testreihe durch.

- Homogenisieren Sie den Inhalt der Vertiefungen sehr sorgfältig:
  - entweder von Hand durch Antippen der Seiten der flach positionierten Mikrotiterplatte;
  - oder mittels eines Mikrotiterplatten-Vibrationsrührers (zum Beispiel 1300 U/min für eine Dauer von 10 Sekunden). Verwenden Sie keinen runden Rührer.
- Lassen Sie die Platte dann bewegungslos und völlig vibrationsfrei liegen.

- Lesen Sie die Reaktion 2 Stunden später ab.

#### 9.3 - Adsorption natürlicher Anti-Schaf-Agglutinine bei Agglutination der Serumkontrolle

- Schütteln Sie das Reagenz **R3** vorsichtig.

- Geben Sie es in ein Röhrchen und mischen Sie es mit:

- 0,1 ml Serum;
- 0,3 ml Reagenz **R3**.

- Lassen Sie es 60 min lang bei Raumtemperatur inkubieren.

- 15 Minuten lang bei 2000 U/min zentrifugieren.

- Sammeln Sie den Kulturüberstand ein. Das Serum wird dann auf 1/4 verdünnt.

- Verdünnen Sie den Kulturüberstand in Reagens **BUF** auf 1/10, um eine adsorbierte Mutterverdünnung (1/40) zu erhalten.

- Wiederholen Sie das Protokoll „Durchführung des Tests auf Mikrotiterplatte“ und ersetzen Sie die Mutterverdünnung durch die adsorbierte Mutterverdünnung.

### 10 - ABLESEN

#### Negative Reaktion:

#### Keine Hämagglutination.

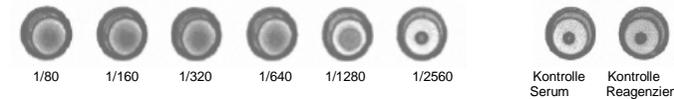
Vorhandensein eines mehr oder weniger breiten Rings am Boden der Vertiefung.

#### Positive Reaktion:

#### Vorhandensein von Hämagglutination.

Vorhandensein eines roten/braunen Schleiers, der die Vertiefung bedeckt; Vorhandensein eines dünnen Umfangstreifens.

Beispiel: Serum positiv bei 1/1280



### 11 - AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Titer <1/80:

#### negative Reaktion.

Wahrscheinliches Fehlen einer Gewebe-Amöbiasis.

1/80 ≤ Titer ≤ 1/160:

#### Unzuverlässige Reaktion.

Eine Kontrolle sollte unter Verwendung von Elektrosynäse-Techniken und Latex-Agglutinationstechniken (**ELITex Bicolor Amoeba**) und indirekte Immunfluoreszenztechniken durchgeführt werden.

Titer > 1/320:

signifikante Reaktion zugunsten der viszeralen Amöbiasis.

### 12 - INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Die Reagenzien **CONTROL+** und **CONTROL-** müssen während der Analyse als Serum behandelt werden. Der Titer des Reagenzes **CONTROL+** muss dem auf dem Etikett des Fläschchens angegebenen Titer bei ± einer Verdünnung entsprechen. Das Reagenz **CONTROL-** darf keine Hämagglutination aufweisen. Wenn dies nicht der Fall ist, ist der Test ungültig.

### 13 - URSACHEN VON FEHLERN UND EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTS

- Schlechte Lagerung des Serums.
- Schlechte Lagerung der Reagenzien nach dem Öffnen.
- Verwenden Sie nur die im Kit enthaltenen Tropfer.
- Tauschen Sie die Tropfer nicht zwischen den Reagenzien aus **R1** und **R2** aus.
- Wenn die Reaktion in den ersten 6 Vertiefungen positiv ist, fahren Sie mit den Verdünnungen fort, um den Grenzwert für den Hämagglutinationstiter zu ermitteln.
- Die Serumkontrolle muss eine negative Reaktion (Ring) ergeben. Im Falle einer Hämagglutination dieser Kontrolle muss der Test wiederholt werden, nachdem die natürlichen Anti-Schaf-Agglutinine durch Adsorption aus dem Serum entfernt wurden.
- Die Reagenzienkontrolle muss eine negative Reaktion (Ring) ergeben. Im Falle einer Hämagglutination bei dieser Kontrolle, handelt es sich um ein Reagenz **ELI.HA Amoeba**, das nicht gebraucht werden kann.
- Einige Seren, deren Antikörperkonzentration sehr hoch ist, können bei den ersten Verdünnungen ein Zonenphänomen (mit Zurückziehen des Schleiers) verursachen, das mit den folgenden Verdünnungen verschwindet.
- Die Qualität der Reagenzien ermöglicht die Durchführung der Reaktion am Abend und die Ablesung am nächsten Morgen, sofern die Mikrotiterplatte nicht bewegt wird und vor Vibrationen geschützt ist.
- In allen Fällen und bevor die endgültige Diagnose gestellt wird, sollte die Interpretation des Tests unter Einbeziehung aller klinischen, epidemiologischen und biologischen Daten und der Ergebnisse anderer Tests erfolgen.

### 14 - LEISTUNGEN

ELI.HA Amoeba besteht aus roten Blutkörperchen, die durch ein Antigen von *Entamoeba histolytica* sensibilisiert wurden und das durch Axenkultur (eine Kultur, die frei von saprophytischen oder pathogenen Keimen ist) erhalten wurde. Dies garantiert Sensitivität und Spezifität für die Reaktion. Die Ergebnisse der Auswertungen des Reagens **ELI.HA Amoeba** zeigen somit eine Sensitivität von 93 % und eine Spezifität von 97 %.

### 15 - ABFALLENTSORGUNG

Abfälle müssen gemäß den Hygienevorschriften und Gesetzen entsorgt werden, die im Verwendungsland für diese Art von Produkt gelten.

Bei versehentlichem Verschütten des Reagens **BUF**: Reinigen Sie die Arbeitsfläche mit saugfähigem Papier und spülen Sie sie mit Wasser ab. Wenn Serum oder ein anderes Reagens verschüttet wird: Mit Bleichmittel und saugfähigem Papier reinigen.

### 16 - LITERATURVERZEICHNIS

1. L.-S. DIAMOND - Techniques of axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 and *E. histolytica*-like amebae - *J. Parasitol.*, 1968, 54(5), 1047-1056.
2. O. PRAKASH, B.-N. TANDON, I. BHALLA, A.-K. AY, V.-K. VINAYAK - Indirect hemagglutination and ameba-immobilization tests and their evaluation in intestinal and extraintestinal amebiasis - *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1969, 18(5), 670-675.
3. M.-N. MORRIS, S.-J. POWELL, R. ELSDON-DEW - Latex agglutination test for invasive amebiasis - *Lancet*, 1970, 27,1(7661), 1362-1363.
4. J. BOS, A.-A. EUJK, P.-A. STEERENBERG - Application of ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) in the sero-diagnosis of amebiasis - *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1975, 69(4),440.
5. A. VOLLER, D.-E. BIDWELL, A. BARTLETT, R. EDWARDS - A comparison of isotopic and enzyme-immunoassays for tropical parasitic diseases - *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1977, 71(5), 431-437.
6. P. AMBROISE-THOMAS, P.-T. DESGEORGES, D. MONGET - Immunoenzyme (ELISA) diagnosis of parasitic diseases using a modified micro-method. Results for toxoplasmosis, amebiasis, trichinosis, hydatidosis and aspergillosis - *Bull. World. Health Organ.*, 1978, 56(5), 797-804.
7. D.-P. HARTMANN, E. GHADIRIAN, E. MEEROVITCH - Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect hemagglutination (IHA) test in the serodiagnosis of experimental hepatic amebiasis - *J. Parasitol.*, 1980, 66(2), 344-345.
8. J.-O. OSISANYA, D.-C. WARHURST - Specific anti-amoebic immunoglobulins and the cellulose acetate precipitin test in *Entamoeba histolytica* infection - *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1980, 74 (5), 605-608.
9. A. TANDON - Use of enzyme linked immunosorbent assay in intestinal and extra-intestinal amebiasis (amoebic liver abscess) - *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1981, 75(4), 574-575.
10. J.-M. PINON, J. POIRRIEZ, G. REMY, H. LEPAN - Immunological studies in amebiasis: isotopic characterization of specific antibodies by enzyme-linked immunofiltration assay - *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1987, 37(2), 290-295.
11. B.-M. GANDHI, M. IRSHAD, T.-C. CHAWLA, B.-N. TANDON - Enzyme linked protein-A : an ELISA for detection of amoebic antibody - *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1987, 81(2), 183-185.
12. R. ROBERT, C. MAHAZA, C. BERNARD, C. BUFFARD, J.-M. SENET - Evaluation of a new bicolored latex agglutination test for immunological diagnosis of hepatic amebiasis - *J. Clin. Microbiol.*, 1990, 28(6), 1422-1424.

Die Änderungen gegenüber der Vorgängerversion sind grau hervorgehoben.

### ELITech BIO

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

