

ELI.H.A Amoeba

Serodiagnose der Amöbiasis durch indirekte Hämagglutination

120 Tests

(Artnr. 66602)

8000100-DE-2025-07

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 - REAGENZIEN UND MATERIAL

Beschreibung	Anzahl
R1: 2,4-ml-Durchstechflasche mit sensibilisierten roten Blutkörperchen	1
R2: 1-ml-Durchstechflasche mit nicht-sensibilisierten roten Blutkörperchen	1
BUF: Durchstechflasche mit 55 ml Phosphatpuffer, pH 7,2	1
R3: Durchstechflasche mit 2 ml Adsorbens	1
CONTROL +: 0,2-ml-Durchstechflasche mit titrierter Positivkontrolle	1
CONTROL -: 0,2-ml-Durchstechflasche mit Negativkontrolle.	1
MICROPLATE: U-förmige Mikrotiterplatte	2
DROPPER: 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 %). Das in den Reagenzien enthaltene Natriumazid kann mit den Schwermetallen in den Leitungen reagieren und explosive Verbindungen bilden. Es wird daher empfohlen, die Reagenzien nicht in den Abfluss zu schütten und die geltenden Empfehlungen und Vorschriften zur Abfallentsorgung zu beachten.
- 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 Luftpblasen in den Tropfchen 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 Hämolysen oder Kontamination aufweisen.
Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.
Teilen Sie das Serum niemals in seine einzelnen Bestandteile.

7 - LAGERUNG UND ZUBEREITUNG VON REAGENZIEN

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 Pipettievolumen;
- 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 Verteilung in die zweite Verteilung, von der zweiten Verteilung in die dritte Verteilung und so weiter bis zur sechsten Verteilung übertragen, wobei 50 µl der sechsten Verteilung weggeworfen werden.

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

Übertragen Sie 50 µl des verdünnten Serums auf die siebte Verteilung. 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 Verteilungen.
- Übertragen Sie einen Tropfen des Reagens R2 in die siebte Verteilung (Serumkontrolle).
- Übertragen Sie einen Tropfen des Reagens R1 in die achte Verteilung (Reagenzkontrolle), 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 Kulturrüberstand ein. Das Serum wird dann auf 1/4 verdünnt.
- Verdünnen Sie den Kulturrüberstand 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.

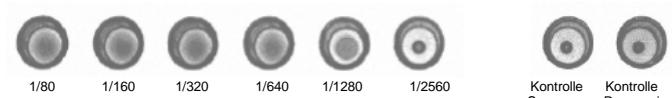
Vorhandensein eines mehr oder weniger breiten Rings am Boden der Vertiefung.

Positive Reaktion:

Vorhandensein von Hämagglutination.

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

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-Agglutinationsmethoden (**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 Verteilungen positiv ist, fahren Sie mit den Verdünnungen fort, um den Grenzwert für den Hämagglutinationstitler 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 Zonenphänomene (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 Vibratoren 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 Axenkulturn (eine Kultur, die frei von saprophytischen oder pathogenen Keimen) 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 amebalimmobilization tests and their evaluation in intestinal and extraintestinal amoebiasis - *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1969, 18(5), 670-675.
3. M.-N. MORRIS, S.-J. POWELL, R. ELDSON-DEW - Latex agglutination test for invasive amoebiasis - *Lancet*, 1970, 27,17661), 1362-1363.
4. J. BOS, A.-E. EUK, P.-A. STEERENBERG - Application of ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) in the sero-diagnosis of amoebiasis - *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1975, 69(4), 440.
5. A. VOLLER, D.-E. BIOWELL, 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-TOMAS, P.-T. DESGEORGES, D. MONGET - Immunoneutralization (ELISA) diagnosis of parasitic diseases using a modified micromethod. Results for toxoplasmosis, amoebiasis, trichomoniasis, 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 amoebiasis - *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 amoebiasis (amoebic liver abscess) - *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1981, 75(4), 574-575.
10. J.-M. PINON, J. POIRRIEZ, G. REMY, H. LEPLAN - Immunological studies in amoebiasis: isotypic 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 amoebiasis - *J. Clin. Microbiol.*, 1990, 28(6), 1422-1424.

Die Änderungen gegenüber der Vorgängerversion sind grau hervorgehoben.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau
Allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE

Tel: +33 (0) 4 94 88 55 00
<http://www.elitechgroup.com>