

ELI.HA Amoeba

Οροδιαγνωστικός έλεγχος της υδροπάθειας από έμμεση αιμοσυγκόλληση

120 δοκιμές
(ΣΧΕΤ. 66602)

8000100-EL-2012-05

Για διάγνωση *in vitro* μόνο για επαγγελματική χρήση.
Οι δοκιμές είναι μόνο για μία χρήση.



1 - ΣΤΟΧΟΣ

ELI.HA Amoeba επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων ορού που στρέφονται κατά *Entamoeba histolytica* με έμμεση αιμοσυγκόλληση. Το kit επιτρέπει τη διεξαγωγή 120 δοκιμών ή 20 αντιδράσεων με 6 αραιώσεις.

2 - ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αμοιβάδα ή η αμοβέωση είναι μια παρασιτική ασθένεια που προκαλείται από ένα πρωτόζωο συγκεκριμένο για τον άνθρωπο: *Entamoeba histolytica*. Είναι η μόνη παθολόγος αμοιβάδα του ανθρώπου. Η σεροδιαγνωστικότητα επιτρέπει για επιβεβαίωση των αμυμών της ηπατικής και της πνευμονικής τάξης.

3 - ΑΡΧΗ

ELI.HA Amoeba βασίζεται στην αρχή της έμμεσης αιμοσυγκόλλησης. Ευαισθητοποιημένα ερυθρά αιμοσφαίρια αποτελούνται από ερυθρά αιμοσφαίρια εξασφαλιζούν την εξειδίκευση της αντίδρασης και καθιστούν δυνατή την εξέλιξη των παρεμβολών που οφείλονται σε φυσικές συγκολλητίνες κατά των προβάτων (ετεροαντισώματα Forssman, αντισώματα μολύνσεως από μόλυνση, κλπ.). Η αντίδραση διεξάγεται σε μικροπλάκα με πιπιλέαμα U. Ο χειρισμός είναι απλός και γρήγορος. Τα αποτελέσματα λαμβάνονται σε 2 ώρες.

4 - ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

Περιγραφή	Ποσότητα
R1 : φιάλη των 2.4 mL ευαισθητοποιημένων ερυθρών αιμοσφαιρίων R2 : Φιαλίδιο 1 mL από μη ευαισθητοποιημένα ερυθρά αιμοσφαίρια BUF : Φιάλη 55 mL ρυθμιστικού φωσφορικού pH 7,2 R3 : 2 mL φιαλίδιο προσροφητή ΕΛΕΓΧΟΣ + : 0,2 mL φιάλη τιποδοτημένου θετικού ελέγχου ΕΛΕΓΧΟΣ - : φιάλη 0.2 mL αρνητικού μάρτυρα ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΑ : Μικροπλάκα σε σχήμα U DROPPER : ειδικό σταγονόμετρο	1 1 1 1 1 2 2

5 - ΠΡΟΦΥΛΑΞΙΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΕΡΓΑΣΙΑ

- Τα αντιδραστήρια προορίζονται μόνο για διάγνωση *in vitro* (σε δοκιμαστικό σωλήνα) και πρέπει να γίνεται από εξουσιοδοτημένα άτομα.
- Οι δοκιμές είναι μόνο για μία χρήση.
- Όλα τα αντιδραστήρια, εκτός από τα αντιδραστήρια **BUF**, περιέχουν ουσίες ζωικής προέλευσης και πρέπει να αντιμετωπίζονται με τις συνήθεις προφυλάξεις.
- Τα δείγματα είναι δυνητικά μολυσματικά. Πρέπει να γίνεται με τις συνήθεις προφυλάξεις σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής και τους κανονισμούς που ισχύουν στη χώρα χρήσης.
- Τα αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του νατρίου (συγκέντρωση <0.1%).
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης.
- Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια από διαφορετικές παρτίδες.
- Περιμένετε έως ότου ο ορός και τα αντιδραστήρια εξισορροπούνται σε θερμοκρασία δωματίου.
- Ανακινήστε καλά τα αντιδραστήρια **R1** και **R2** πριν από τη χρήση.
- Κατά τη χορήγηση αντιδραστηρίων **R1** και **R2**, βεβαιωθείτε ότι η σταγόνα είναι τελείως κάθετη. Βεβαιωθείτε ότι δεν υπάρχουν φυσαλίδες αέρα στις σταγόνες έτσι ώστε οι όγκοι που παραδίδονται να είναι σταθεροί.

6 - ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Χρησιμοποιήστε φρέσκους ή διατηρημένους ορούς στους -20 °C, χωρίς αιμόλυση θολότητας ή μόλυνση. Αποφύγετε την επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη. Μην αποικοδομείτε τον ορό.

7 - ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια είναι έτοιμα για χρήση. Όλα τα αντιδραστήρια που είναι αποθηκευμένα στους 2-8 °C είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο kit. Δεν πρέπει να πανώσουν.

8 - ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

- Αυτόματη (-ες) πιπέτα (-ες) με όγκο διανομής προσαρμοσμένη στην προς μέτρηση ποσότητα.
- Δοχεία για μολυσμένα απόβλητα.
- Φυγοκέντρωση.
- Σωλήνες αιμόλυσης.

9 - ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Εξισορροπήστε τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν τη χρήση.

9.1 - Προετοιμασία του δειγματος

Αραιώστε τον ορό δοκιμής σε 1/40:

- 50 mL ορού.
- 1,95 mL αντιδραστηρίου **BUF**.

9.2 - Διεξαγωγή της δοκιμής μικροπλάκων

- Χρησιμοποιώντας μικροκυψέλη πολλαπλών καναλιών, διανείμετε 50 µL αντιδραστηρίου **BUF** σε 8 φρεάτια της μικροπλάκας.

- Χρησιμοποιώντας μικροπιπέτα, διανείμετε 50 µL του αραιωμένου ορού στο 1^ο κύπελλο. Αναμείξτε με το αντιδραστήριο **BUF** και μεταφορά, κατά προτίμηση χρησιμοποιώντας ένα μικρο-αρωματικό ("τουλίπα"), 50 µL του 1^{στου} κουκούλι στο 2^ο, από τις 2^ο στο 3^ο, και ούτω καθεξής έως τις 6^ο φλιτζάνια, απορρίπτοντας 50 µL από τα 6^ο κύπελλα. Λαμβάνονται έτσι αραιώσεις 1/80 έως 1/2560.

- Διανείμετε 50 µL του αραιωμένου ορού στο 7^ο κύπελλο. Αναμείξτε με το αντιδραστήριο **BUF** και απορρίψτε 50 µL.

Αυτή η αραιώση (1/80) είναι ο έλεγχος ορού, ο ρόλος του οποίου είναι να ανιχνεύσει φυσικές συγκολλητίνες προβάτων που μπορεί να περιέχονται μερικούς ορούς.

- Ανακινήστε καλά τα αντιδραστήρια **R1** και **R2**.
 - Τοποθετήστε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου **R1** στα πρώτα 6 φλιτζάνια.
 - Τοποθετήστε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου **R2** στο 7^ο κύπελλο (έλεγχος ορού).
 - Τοποθετήστε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου **R1** στο 8^ο κύπελλο (αντιδραστικός έλεγχος) του οποίου ο ρόλος είναι να ελέγξει την εγκυρότητα του αντιδραστηρίου **BUF** και αντιδραστήριο **R1**.

Παρατήρηση : Εκτελέστε μόνο ένα αντιδραστικό έλεγχο ανά σειρά δοκιμών

- Ομογενοποιήστε πολύ προσεκτικά τα περιεχόμενα των κυπέλλων:
 - είτε με το χέρι, χτυπώντας δίπλα από τις πλεπρές της πλάκας, τοποθετημένες σε ένα επίπεδο,
 - είτε με χρήση αναθετήρα ανάθεσης για πλάκες μικροπιπιλοποίησης (για παράδειγμα 1300 περιστροφές / λεπτό για 10 δευτερόλεπτα). Μην χρησιμοποιείτε έναν τροχικό αναθετήρα.
- Αφήστε την πλάκα ακίνητη, προστατευμένη από κραδασμούς.
- Διαβάστε την αντίδραση 2 ώρες αργότερα.

9.3 - Προσρόφηση φυσικής συγκολλητίνης κατά των προβάτων σε περίπτωση συγκόλλησης του ορού ελέγχου

- Ανακινήστε καλά το αντιδραστήριο **R3**.
- Διανείμετε σε ένα σωλήνα και αναμείξτε:
 - 0,1 mL ορού.
 - 0,3 mL αντιδραστηρίου **R3**.
- Επωάστε για 60 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
- Φυγοκεντρίστε σε 2000 rpm για 15 λεπτά.
- Συλλέξτε το υπερκείμενο υγρό. Ο ορός αραιώνεται έπειτα κατά 1/4.
- Αραιώστε το υπερκείμενο 1/10 στο αντιδραστήριο **BUF** για να ληφθεί μια απορρόφηση μητρικής αραιώσης (1/40).
- Επαναλάβετε το πρωτόκολλο "Προσδιορισμός μικροπλάκων" αντικαθιστώντας την αρχική αραιώση με την προσροφημένη αραιώση του αποθέματος.

10 - ΑΝΑΓΝΩΣΗ

Αρνητική αντίδραση : Απουσία αιμοσυγκόλλησης. Παρουσία ενός δακτυλίου περισσότερο ή λιγότερο φαρδύτερο στο κάτω μέρος του κυπέλλου.

Θετική αντίδραση : Παρουσία αιμοσυγκόλλησης. Παρουσία ενός κόκκινου / καφέ πέτλου που καλύπτει το κομμάτι. Μερικές φορές, υπάρχει ένα ωραίο περιφερειακό περίγραμμα.

Παράδειγμα: Θετικός ορός στο 1/1280



11 - ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τίτλος < 1/80 : **Αρνητική αντίδραση.** Πιθανή απουσία της αμοιβδωσης των ιστών.
1/80 ≤ Τίτλος ≤ 1/160 : **Αναμφισβήτητη αντίδραση.** ένα έλεγχος πρέπει να διεξάγεται με ηλεκτροσύνη και τεχνικές συγκόλλησης με λατέξ (**ELITex Bicolor Amoeba**) και έμμεσο ανοσοφθορισμό.
Τίτλος > 1/320 : **Σημαντική αντίδραση υπέρ της σπλαχνικής αμοιβάδας.**

12 - ΕΞΩΤΕΡΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Αντιδραστήρια **ΕΛΕΓΧΟΣ +** και **ΕΛΕΓΧΟΣ-** θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως οι οροί που πρόκειται να αναλυθούν. Ο τίτλος του αντιδραστηρίου **ΕΛΕΓΧΟΣ +** πρέπει να είναι ίσος με τον τίτλο που αναγράφεται στην επικέτα του φιαλιδίου σε ± μία αραιώση. Το αντιδραστήριο **ΕΛΕΓΧΟΣ-** πρέπει να έχει απουσία αιμοσυγκόλλησης. Αν αυτό δεν συμβαίνει, η δοκιμή δεν είναι έγκυρη.

13 - ΑΙΤΙΑ ΣΦΑΛΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΟΡΙΑ ΔΟΚΙΜΩΝ

- Κακή διατήρηση του ορού.
- Λανθασμένη αποθήκευση αντιδραστηρίων μετά το άνοιγμα.
- Χρησιμοποιείτε μόνο τα σταγονόμετρα που παρέχονται στο κουτί.
- Μην αλλάζετε τις σταγόνες μεταξύ των αντιδραστηρίων **R1** και **R2**.
- Στην περίπτωση θετικής αντίδρασης στα πρώτα 6 φλιτζάνια, συνεχίστε τις αραιώσεις για να βρείτε τον οριακό τίτλο αιμοσυγκόλλησης.
- Ο έλεγχος του ορού θα πρέπει να δώσει μια αρνητική αντίδραση (δακτύλιος). Σε περίπτωση αιμοσυγκόλλησης αυτού του ελέγχου, είναι απαραίτητο να επαναληφθεί η δοκιμασία μετά την εξέλιξη των φυσικών αντι-προβάτων συγκολλητίνων από τον ορό με προσρόφηση.
- Ο αντιδραστικός έλεγχος πρέπει να δώσει αρνητική αντίδραση (δακτύλιος). Σε περίπτωση αιμοσυγκόλλησης αυτού του ελέγχου, το αντιδραστήριο **ELI.HA Amoeba** δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί.
- Μερικοί οροί, των οποίων η συγκέντρωση αντισωμάτων είναι πολύ υψηλή, μπορεί να προκαλέσει ένα φαινόμενο ζώνης (με συστολή του πέτλου) στις πρώτες αραιώσεις, το οποίο εξασφαλίζεται στις ακόλουθες αραιώσεις.
- Η ποιότητα των αντιδραστηρίων καθιστά δυνατή την πραγματοποίηση της αντίδρασης το βράδυ και την εκτέλεση της ανάπτυξης το επόμενο πρωί, υπό την προϋπόθεση ότι η μικροπλάκα δεν υψίσταται μετατόπιση και είναι άνοστος στους κραδασμούς.
- Σε όλες τις περιπτώσεις και πριν από την τελική διάγνωση, η ερμηνεία της δοκιμής πρέπει να διεξαχθεί με την ενσωμάτωση όλων των κλινικών, επιδημιολογικών και βιολογικών δεδομένων και των αποτελεσμάτων των άλλων δοκιμών.

14 - ΕΠΙΛΟΞΕΙΣ

ELI.HA Amoeba αποτελείται από ερυθρά αιμοσφαίρια ευαισθητοποιημένα με ένα αντιγόνο *Entamoeba histolytica*, που λαμβάνεται με αzenική καλλιέργεια. Εξασφαλίζει ευαισθησία και εξειδίκευση στην αντίδραση. Έτσι, τα αποτελέσματα των αξιολογήσεων των αντιδραστηρίων **ELI.HA Amoeba** παρουσιάζουν ευαισθησία 93% και ειδικότητα 97%.

15 - ΔΙΑΘΕΣΗ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ

Τα απόβλητα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους ισχύοντες κανόνες και κανονισμούς υγιεινής για αυτόν τον τύπο αντιδραστηρίων στη χώρα χρήσης. Σε περίπτωση τυχαίας πληρωμής του αντιδραστηρίου **BUF**, καθαρίστε την επιφάνεια εργασίας με απορροφητικό χαρτί και ζεπλύνετε με νερό. Αν έχετε ορό ή άλλο αντιδραστήριο, καθαρίστε με λευκαντικές και χαρτοπετσέτες.

16 - ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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. ELUK, 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 micromethod. 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 amoebiasis - *J. Clin. Microbiol.*, 1990, 28(6), 1422-1424.

οι αλλαγές από την προηγούμενη έκδοση επισημαίνονται με γκρι χρώμα.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau
allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
☎ : 33 (0)4 94 88 55 00
Fax.: 33 (0)4 94 82 82 61
http://www.elitechgroup.com

