ELI.H.A Amoeba

Οροδιαγνωστικός έλεγχος της υδροπάθειας από έμμεση αιμοσυγκόλληση

120 δοκιμές

(Σχετ. 66602)

8000100-EL-2025-07
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 κιτ 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 παθογόνος αμοιβάδα του ανθρώπου. Η σεροδιαγνωστικότητα επιτρέπει για επιβεβαίωση των αμυμών της ηπατικής και της πνευμονικής τάξης.

3 - ΑΡΧΗ

ELI.H.A Amoeba βασίζεται στην αρχή της έμμεσης αιμοσυγκόλλησης. Ευαισθητοποιημένα ερυθρά αιμοσφαίρια αποτελούνται από ερυθρά αιμοσφαίρια προβατοειδών που καλύπτονται με διαλυτό αντιγόνο*Entamoeba histolytica.* Η παρουσία συγκεκριμένων αντισωμάτων*Entamoeba histolytica* προκαλεί συγκόλληση ευαισθητοποιημένων ερυθρών αιμοσφαιρίων, πράγμα που έχει ως αποτέλεσμα ένα κόκκινο / καφέ πέπλο που καλύπτει το κύπελλο. Ελλείψει ειδικών αντισωμάτων, αυτά τα ερυθρά κύτταρα καθιζάνουν στον πυθμένα του κυπέλλου υπό τη μορφή δακτυλίου.
Τα μη ευαισθητοποιημένα ερυθρά αιμοσφαίρια εξασφαλίζουν την εξειδίκευση της αντίδρασης και καθιστούν δυνατή την εξάλειψη των παρεμβολών που οφείλονται σε φυσικές συγκολλητίνες κατά των προβάτων (ετεροαντισώματα Forssman, αντισώματα μολύνσεως από μόλυνση, κλπ.).
Η αντίδραση διεξάγεται σε μικροπλάκα με πυθμένα 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	**1**
R2 : Φιαλίδιο 1 mL από μη ευαισθητοποιημένα ερυθρά αιμοσφαίρια	**1**
BUF: Φιάλη 55 mL ρυθμιστικού φωσφορικού pH 7,2	**1**
R3 : 2 mL φιαλίδιο προσροφητή	**1**
CONTROL +: 0,2 mL φιάλη τιτλοδοτημένου θετικού ελέγχου	**1**
CONTROL -: φιάλη 0.2 mL αρνητικού μάρτυρα	**1**
MICROPLATE: Μικροπλάκα σε σχήμα U	**2**
DROPPER: ειδικό σταγονόμετρο	**2**

5 - ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ 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%). Το αζίδιο του νατρίου που περιέχεται στα αντιδραστήρια μπορεί να αντιδράσει με τα βαρέα μέταλλα στους σωλήνες σχηματίζοντας εκρηκτικές ενώσεις. Συνεπώς, συνιστάται να μην απορρίπτετε τα αντιδραστήρια στον νεροχύτη και να ακολουθείτε τις ισχύουσες συστάσεις και κανονισμούς για την απόρριψη αποβλήτων.
- 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 μόλυνσης.
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 κιτ. Δεν πρέπει να παγώσουν.

8 - ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

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

9 - ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Εξισορροπήστε τα αντιδραστήρια σε θερμοκρασία δωματίου πριν τη χρήση.

9.1 - Προετοιμασία του δείγματος

Αραιώστε τον ορό δοκιμής σε 1/40:
- 50 μL ορού.
- 1,95 mL αντιδραστηρίου **BUF**.

9.2 - Διεξαγωγή της δοκιμής μικροπλακών

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

- Χρησιμοποιώντας μικροπιπέτα, διανείμετε 50 μL του αραιωμένου ορού στο 1° κύπελλο.
  Αναμείξτε με το αντιδραστήριο **BUF** και μεταφορά, κατά προτίμηση χρησιμοποιώντας ένα μικρο-αραιωτικό ("τουλίπα"), 50 μL του 1ης κουκούλι στο 2ου, από τις 2ου στο 3ου, και ούτω καθεξής έως τις 6ου φλιτζάνι, απορρίπτοντας 50 μL από τα 6ου κύπελλο.
  Λαμβάνονται έτσι αραιώσεις 1/80 έως 1/2560.

- Διανείμετε 50 μL του αραιωμένου ορού στο 7°
  κύπελλο. Αναμείξτε με το αντιδραστήριο **BUF** και
  απορρίψτε 50 μL.
  Αυτή η αραίωση (1/80) είναι ο έλεγχος ορού, ο ρόλος του οποίου είναι να ανιχνεύσει φυσικές συγκολλητίνες προβάτων που μπορεί να περιέχουν μερικούς ορούς.
- Ανακινήστε καλά τα αντιδραστήρια **R1** και **R2**.
  - Τοποθετήστε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου **R1** στα πρώτα 6 φλυτζάνια.
  - Τοποθετήστε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου **R2** στο 7° κύπελλο (έλεγχος ορού).
  - Τοποθετήστε 1 σταγόνα αντιδραστηρίου **R1** στο 8° 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 πλευρές της πλάκας, τοποθετημένης σε ένα επίπεδο,
  - είτε με χρήση αναδευτήρα ανάδευσης για πλάκες μικροτιτλοποίησης (για παράδειγμα 1300 περιστροφές / λεπτό για 10 δευτερόλεπτα). Μην χρησιμοποιείτε έναν τροχιακό αναδευτήρα.
- 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 αραίωσης (1/40).
- Επαναλάβετε το πρωτόκολλο "Προσδιορισμός μικροπλακών" αντικαθιστώντας την αρχική αραίωση με την προσροφημένη αραίωση 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 πέπλος που καλύπτει το κούμπωμα.
Μερικές φορές, υπάρχει ένα ωραίο περιφερειακό περίγραμμα.

Παράδειγμα: Θετικός ορός στο 1/80

11 - ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τίτλος < 1/80 : **Αρνητική αντίδραση.**
Πιθανή απουσία της αμοιβάδωσης 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 - ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ 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 ετικέτα του φιαλιδίου σε ± μία αραίωση. 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 φλυτζάνια, 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 εξάλειψη των φυσικών αντι-προβάτων συγκολλητινών από τον ορό με προσρόφηση.
- Ο αντιδραστικός έλεγχος πρέπει να δώσει αρνητική αντίδραση (δακτύλιος). Σε περίπτωση αιμοσυγκόλλησης αυτού του ελέγχου, το αντιδραστήριο **ELI.H.A Amoeba** δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί.
- Μερικοί οροί, των οποίων η συγκέντρωση αντισωμάτων είναι πολύ υψηλή, μπορεί να προκαλέσει ένα φαινόμενο ζώνης (με συστολή του πέπλου) στις πρώτες αραιώσεις, το οποίο εξαφανίζεται στις ακόλουθες αραιώσεις.
- Η ποιότητα των αντιδραστηρίων καθιστά δυνατή την πραγματοποίηση της αντίδρασης το βράδυ και την εκτέλεση της ανάγνωσης το επόμενο πρωί, υπό την προϋπόθεση ότι η μικροπλάκα δεν υφίσταται μετατόπιση και είναι άνοστος στους κραδασμούς.
- Σε όλες τις περιπτώσεις και πριν από την τελική διάγνωση, η ερμηνεία της δοκιμής πρέπει να διεξάγεται με την ενσωμάτωση όλων των κλινικών, επιδημιολογικών και βιολογικών δεδομένων και των αποτελεσμάτων των άλλων δοκιμών.

14 - ΕΠΙΔΟΣΕΙΣ

ELI.HA Amoeba αποτελείται από ερυθρά αιμοσφαίρια ευαισθητοποιημένα με ένα αντιγόνο*Entamoeba histolytica*, που λαμβάνεται με αξενική 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 ξεπλύνετε 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 amoebiasis - *Lancet,* 1970, 27,1(7661), 1362-1363.
4. J. BOS, A.-A. EIJK, 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. 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 amoebiasis (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: 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.

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
http://www.elitechgroup.com