

ELI.H.A Amoeba

Serodiagnóstico de la amibirosis
por hemaglutinación indirecta

120 pruebas

(Ref. 66602)

8000100-ES-2025-07

Para uso en diagnóstico *in vitro*, sólo para uso profesional.
Pruebas de un solo uso.



1 - FINALIDAD

ELI.H.A Amoeba permite la determinación cuantitativa por indirecta hemaglutinación de los anticuerpos séricos dirigidos contra el *Entamoeba histolytica*.
Cada kit permite realizar 120 pruebas o 20 reacciones de 6 diluciones.

2 - INTRODUCCIÓN

La amibirosis (o amebiosis) es una infección parasitaria causada por un protozoo (protozoarios) específico del hombre: *Entamoeba histolytica*. Es la única amibirosis patológica del hombre. El serodiagnóstico permite confirmar amibirosis de tipo hepático o pulmonar.

3 - PRINCIPIO

ELI.H.A Amoeba se basa en el principio de la hemaglutinación indirecta. Los glóbulos rojos sensibilizados están constituidos por eritrocitos de cordero recubiertos por un antígeno soluble de *Entamoeba histolytica*.

La presencia de anticuerpos séricos de *Entamoeba histolytica* provoca una aglutinación de los glóbulos rojos sensibilizados que se traduce en una mancha roja / marrón que cubre la cúpula. A falta de anticuerpos específicos, los glóbulos rojos forman un depósito en forma de anillo en el fondo de la cúpula.

Los glóbulos rojos no sensibilizados aseguran la especificidad de la reacción y permiten eliminar las interferencias debidas a las aglutinaciones naturales anti-cordero (heteroanticuerpos de Forssman, anticuerpos de la mononucleosis infecciosa...).

La reacción se efectúa en una micropalca con el fondo en forma de U.

La manipulación es simple y rápida y los resultados se obtienen en 2 horas.

4 - REACTIVOS Y MATERIAL

Descripción	Cantidad
R1 : Frasco de 2,4 mL de glóbulos rojos sensibilizados	1
R2 : Frasco de 1 mL de glóbulos rojos no sensibilizados	1
BUF : Frasco de 55 mL de tampón fosfato pH 7,2	1
R3 : Frasco de 2 mL de adsorbente	1
CONTROL + : Frasco de 0,2 mL de control positivo titulado	1
CONTROL - : Frasco de 0,2 mL de control negativo	1
MICROPLATE: Micropalca con fondo en U	2
DROPPER: Cuentagotas especial	2

5 - PRECAUCIONES

- Los reactivos están destinados a un uso *in vitro* únicamente y deben ser manipulados por personal capacitado para ello.
- Las pruebas son de un solo uso.
- Todos los reactivos, excepto el reactivo BUF, contienen sustancias de origen animal y deben ser manipulados de acuerdo con las precauciones de uso.
- Las muestras de pacientes son potencialmente infecciosas. Deben ser manipuladas de acuerdo con las precauciones de uso, de conformidad con las normas de higiene y la normativa vigente para este tipo de producto en el país de uso.
- Los reactivos contienen azida sódica (concentración < 0,1%). La azida sódica contenida en los reactivos puede reaccionar con los metales pesados de las tuberías y formar compuestos explosivos. Por lo tanto, se recomienda no desecharlos por el desagüe y seguir las recomendaciones y normativas vigentes sobre eliminación de residuos.
- No usar los reactivos después de la fecha de caducidad.
- No usar reactivos de lotes distintos.
- Antes de usar, esperar a que los reactivos estén a temperatura ambiente.
- Agitar con cuidado los reactivos R1 y R2 antes de usarlos.
- En el momento de distribuir los reactivos R1 y R2, asegurarse de que el cuentagotas esté perfectamente vertical. Comprobar que no haya burbujas de aire en las gotas para que los volúmenes suministrados sean constantes.

6 - RECOGIDA DE MUESTRAS Y TRATAMIENTO

Utilizar suero fresco o conservado a -20°C y que no presente signos de hemólisis turbia ni de contaminación.

Evitar las congelaciones y descongelaciones repetidas.

No descomplementar el suero.

7 - CONSERVACIÓN Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Los reactivos están listos para usar.

Los reactivos almacenados a 2°-8°C en sus envases originales se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada en la caja. No congelar.

8 - MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO

- Pipetas automáticas con volumen de pipeteo adaptado al volumen que va a medirse;
- Recipiente para desechos contaminados;
- Centrifugadora;
- Tubos para hemólisis.

9 - MÉTODO

Llevar los reactivos a temperatura ambiente antes de usarlos.

9.1 - Preparación de la muestra

Diluir el suero a analizar a 1/40:

- 50 µL de suero;
- 1,95 mL del reactivo BUF.

9.2 - Realización de la prueba en una micropalca

- Utilizar una pipeta de varios canales, añadir 50 µL de reactivo BUF en 8 cúpulas de la micropalca.
- Con una micro pipeta, añadir 50 µL de suero diluido en la 1^a cúpula. Mezclar el suero con el reactivo BUF y realizar una dilución en serie, preferentemente con un micro diluidor, transfiriendo unos 50 µL de la cúpula n^o1 a la n^o2, después de la 2^a a la 3^a, y así sucesivamente hasta la cúpula n^o6 y rechazando los últimos 50 µL de la cúpula n^o6. De esa manera, se obtienen diluciones de 1/80 hasta 1/2560.
- Añadir 50 µL de suero diluido a la cúpula n^o7. Mezclar el suero con el reactivo BUF y desechar 50 µL. Esta dilución (1/80) constituye el suero de control cuya función es detectar las aglutininas anti cordero que pueden aparecer en determinados sueros.
- Agitar con cuidado los reactivos R1 y R2.
 - Añadir 1 gota del reactivo R1 a las 6 primeras cúpulas.
 - Añadir 1 gota del reactivo R2 a la cúpula n^o7 (suero de control).
 - Añadir 1 gota del reactivo R1 a la cúpula n^o8 (reactivo de control), cuya función es controlar la validez del reactivo BUF y del reactivo R1.

Nota: Realizar únicamente un reactivo de control por cada serie de pruebas.

- Homogeneizar muy cuidadosamente el contenido de las cúpulas.
 - bien manualmente, dando golpecitos laterales sobre los lados de la micropalca, colocada en plano;
 - bien mediante un agitador vibrador para placas de micro titulación (por ejemplo, a 1300 rpm durante 10 segundos). No utilizar un agitador orbital.
- Después, dejar la placa inmóvil, lejos de cualquier tipo de vibración.
- Leer la reacción una vez transcurridas 2 horas.

9.3 - Adsorción de las aglutininas anti cordero naturales en caso de aglutinación del suero de control

- Agitar con cuidado el reactivo R3.
- En un tubo, añadir y mezclar:
 - 0,1 mL de suero;
 - 0,3 mL de reactivo R3.
- Incubar a temperatura ambiente durante 60 minutos.
- Centrifugar a 2000 rpm durante 15 minutos.
- Colectar el sobrenadante; el suero estará diluido a 1/4.
- Diluir el sobrenadante a 1/10 en el reactivo BUF para obtener una dilución "madre" adsorbida de 1/40.
- Seguir las etapas descritas el párrafo "Realización de la prueba en una micropalca", pero sustituyendo la dilución "madre" por la dilución "madre" adsorbida.

10 - LECTURA

Reacción negativa: **Ausencia de hemaglutinación.**

Presencia de un anillo más o menos ancho en el fondo de la cúpula.

Reacción positiva: **Presencia de hemaglutinación.**

Presencia de una película roja / marrón que cubre la cúpula; a veces, presencia de un borde fino periférico.

Ejemplo: Suero positivo en una dilución de 1/1280



11 - INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Título < 1/80: **Reacción negativa.**

Probable ausencia de amibirosis tisular.

1/80 ≤ Título ≤ 1/160: **Reacción dudosa.**

Debe realizarse un control con el método de electroensinéresis aglutinación látex (ELITex Bicolor Amoeba) e inmunofluorescencia indirecta.

Título ≥ 1/320:

Reacción significativa a favor de una amibirosis visceral.

12 - CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Los reactivos CONTROL+ y CONTROL- deben ser utilizados como los sueros que se van a analizar. La titulación del reactivo del CONTROL+ debe ser la misma que la titulación impresa en la etiqueta del frasco ± una dilución. El reactivo CONTROL - debe presentar una ausencia de hemaglutinación. En caso de presencia de hemaglutinación, la prueba no será válida.

13 - CAUSAS DE ERRORES Y LÍMITES DE LA PRUEBA

- Incorrecta conservación del suero.
- Incorrecta conservación de los reactivos después de abrirlos.
- Utilizar únicamente el cuentagotas proporcionado en el kit.
- No intercambiar los cuentagotas entre los reactivos R1 y R2.
- En el caso de reacción positiva en las 6 primeras cúpulas, continuar con la serie de diluciones para determinar la titulación límite de hemaglutinación.
- El suero de control debe dar una reacción negativa (anillo). En caso de hemaglutinación de este control, sería necesario repetir la prueba después de haber eliminado las aglutininas naturales anti cordero del suero mediante adsorción.
- El reactivo de control debe dar una reacción negativa (anillo). En caso de hemaglutinación de este control, el ELI.H.A Amoeba no podrá utilizarse.
- Ciertos sueros, con una concentración muy alta de anticuerpos, pueden dar lugar a un fenómeno de zona (con desaparición de la película) en las primeras diluciones, que desaparece con las diluciones siguientes.
- La calidad de los reactivos permite hacer las diluciones por la tarde y leer la prueba a la mañana siguiente, a condición de que la micropalca no se mueva y quede protegida de las vibraciones.
- En todos los casos y antes de establecer el diagnóstico final, la interpretación de la prueba debe realizarse teniendo en cuenta el conjunto de datos clínicos, epidemiológicos y biológicos, así como los resultados de otras pruebas.

14 - EFICACIA

ELI.H.A Amoeba está formado por glóbulos rojos sensibilizados con un antígeno de *Entamoeba histolytica* obtenido por cultivo axénico, que asegura la especificidad y la sensibilidad de la reacción. De esta manera, los resultados de las evaluaciones demuestran que el reactivo ELI.H.A Amoeba tiene una sensibilidad del 93 % y una especificidad del 97 %.

15 - ELIMINACIÓN DE LOS DESECHOS

Los desechos deben ser eliminados respetando las reglas de higiene y la reglamentación en vigor para este tipo de productos en el país de utilización.

En caso de vertido accidental del reactivo BUF, limpiar el plano de trabajo con un papel absorbente y enjuagar con agua.

En caso de vertido accidental del suero u otro reactivo, limpiar con lejía y papel absorbente

16 - BIBLIOGRAFIA

- L.-S. DIAMOND - Techniques of axenic cultivation of *Entamoeba histolytica* Schaudinn, 1903 and *E. histolytica*-like amebae - *J. Parasitol.*, 1968, 54(5), 1047-1056.
- 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 extra-intestinal amebiasis - *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1969, 18(5), 670-675.
- M.-N. MORRIS, S.-J. POWELL, R. ELDSON-DEW - Latex agglutination test for invasive amebiasis - *Lancet*, 1970, 27,1(7661), 1362-1363.
- 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.
- 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.
- P. AMBROISE-THOMAS, P.-T. DESGEOORGES, 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.
- D.-P. HARTMANN, E. GHADIRIAN, E. MEEROVITCH - Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and indirect hemagglutination (IHA) test for the serodiagnosis of experimental hepatic amebiasis - *J. Parasitol.*, 1980, 66(2), 344-345.
- 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.
- 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.
- J.-M. PINON, J. POURRIEZ, 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.
- 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.
- 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.

Los cambios desde la revisión anterior, están resaltados en gris

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau

Allée d'Athènes

83870 SIGNES

FRANCE

t: 33 (0)4 94 88 55 00

<http://www.elitechgroup.com>

