

ELI.H.A Amoeba

Serodiagnose av amoebiasis av indirekte hemagglutinasjon

120 tester

(Ref. 66602)

8000100-NO-2025-07
Kun for *in vitro* diagnostisk bruk, kun for profesjonell bruk.
nøkkelt bruk tester.



1 - MÅL
ELI.HA Amoeba tillater kvantitativ bestemmelse av serumantistoffer rettet mot *Entamoeba histolytica* ved indirekte hemagglutineringsreaksjon. Settett gjør det mulig å utføre 120 tester eller 20 reaksjoner med 6 fortyntninger.

2 - INNLEDNING
Amoebiasis eller amoebose er en parasittisk sykdom forårsaket av en protozoan spesifikk for mennesker: *Entamoeba histolytica*. Det er den eneste patogene amoeba for mennesker. Serodiagnose tillater å bekrefte amebiasis av lever og lunger.

3 - PRINSIPP
ELI.H.A Amoeba er basert på prinsippet om indirekte hemaagglutinasjon. Sensibiliserte røde blodlegemer består av røde blodceller fra sau dekket med et løselig antigen *Entamoeba histolytica*. Tilstedeværelsen av antistoffer anti-*Entamoeba histolytica* smedfører en agglutinasjon av hematies sensibilisert som viser seg ved et rødt/brunt slør som forer koppen. I fravær av spesifikke antistoffer sedimenterer disse røde celler i bunnen av koppen i form av en ring.
De ikke-sensibiliserte røde blodcellene sikrer reaksjonens spesifisitet og gjør det mulig å eliminere interferens på grunn av naturlige anti-sau-agglutinin (Forssman heteroantistoffer, infeksiose mononukleoseantistoffer, etc.).
Reaksjonen utføres i en U-bunnmikroplate.
Håndteringen er enkel og rask. Resultatene oppnås om 2 timer.

4 - REAGENSER OG UTSTYR

Beskrivelse	Kvantum
R1 : Flaske 2,4 mL sensibiliserte røde blodlegemer	1
R2 : 1 mL hetteglass med ikke-sensibiliserte røde blodlegemer	1
BUF : 55 mL flaske pH 7,2 fosfatbuffer	1
R3 : 2 mL flaske adsorbent	1
CONTROL + : Flaske med 0,2 mL positiv kontroll titrert til	1
CONTORL - : Flaske 0,2 mL negativ kontroll	1
MICROPLATE : U-formet mikroplate	2
DROPPER : spesiell dråpeteller	2

5 - FORSIKTIGHET VED BRUK

- Reagenser er kun ment for diagnose *in vitro* og må håndteres av kvalifisert personell.
- Testene er kun til engangsbruk.
- Alle reagenser unntatt reagens **BUF**, inneholder stoffer av animalsk opprinnelse og skal håndteres med de vanlige forholdsregler.
- Prøverne er potensielt smittsomme. Prøverne er potensielt smittsomme, de må håndteres med de vanlige forholdsregler i henhold til hygienevilkårene og gjeldende bestemmelser i brukerlandet.
- Reagenser inneholder natriumazid (konsentrasjon < 0,1 %). Natriumazidet i reagensene kan reagere med tungmetallene i rørene og danne eksplosive forbindelser. Det anbefales derfor å ikke kaste reagensene i vasken og å følge gjeldende anbefalinger og forskrifter for avfallshåndtering.
- Ikke bruk reagenser utover utløpsdatoen.
- Ikke bruk reagenser fra forskjellige leveranser.
- Vent til serum og reagenser er ekvilibret ved romtemperatur.
- Rist reagensene grundig **R1** og **R2** før bruk.
- Ved dispensering av reagenser **R1** og **R2**, sørg for at dråpetelleren er perfekt vertikal. Kontroller at det ikke er luftbobler i dråpene, slik at volumene som leveres er konstant.

6 - SAMLING OG BEHANDLING AV PRØVER

Bruk friskt eller konserverst serum ved -20 °C uten hemolyse eller forurensning.
Unngå gjentatt frysing og tining.
Ikke dekomplementer serumet.

7 - BEVARING OG TILBEREDNING AV

REAGENSERReagensene er klare til bruk.
Alle reagenser lagret ved 2-8 °C er stabile til utløpsdatoen som er angitt på settet. De må ikke fryses.

8 - MATERIALER BESTILT, MEN IKKE LEVERT

- Automatisk pipette (r) med pipetteringsvolum tilpasset mengden som skal måles;
- Beholdere for forurenset avfall;
- Sentrifuge;
- Hemolyse rør.

9 - OPERATIV MODUS

Ekvilibrere reagensene ved romtemperatur før bruk.

9.1 - Fremstilling av prøven

Fortynn testserumet til 1/40:

- 50 µL serum;
- 1,95 mL reagens **BUF**.

9.2 - Utføre mikroplate testen

- Bruk en flerkanals mikropipette, dispens 50 µL reagens **BUF** i 8 brønner av mikroplaten.

- Bruk en mikropipett, dispens 50 µL av det fortyntede serum i 1^{ste} kopp.
Bland med reagens **BUF** og overfør, fortrinnsvis ved bruk av en mikrofortynningsmiddel ("tulipan"), 50 µL av 1 kopp i 2^{de}, fra 2^{de} i 3^{de}, og så videre til 6^{de} kopp, avviser 50 µL av 6^{de} kopp.
Fortynninger 1/80 til 1/2560 oppnås således.

- Fordel 50 µL av det fortyntede serum i 7^{de} kopp.
Bland med reagens **BUF** og avvis 50 µL.
Denne fortyntingen (1/80) er serumkontrollen, hvis rolle er å oppdage naturlige anti-sau-agglutinin som kan inneholde noen sera.

- Rist reagensene grundig **R1** og **R2**.
 - Sett inn 1 dråpe reagens **R1** i de første 6 koppene.
 - Sett inn 1 dråpe reagens **R2** i 7^{de} kopp (serumkontroll).
 - Sett inn 1 dråpe reagens **R1** i 8^{de} kopp (reaktiv kontroll) som har til hensikt å kontrollere reagensens gyldighet **BUF** og reagens **R1**.

Merk: Gjør kun en reaktiv kontroll per testkjøring.

- Homogeniser svært nøye innholdet i koppene:
 - enten manuelt ved siden av å tappe på sidene av mikroplaten, lagt flat;
 - enten ved å bruke en risteromrører for mikrotiteringsplater (for eksempel 1300 omdreininger / minutt i 10 sekunder). Ikke bruk en orbital shaker.
- La platen fortsatt være beskyttet mot vibrasjon.

- Les reaksjonen 2 timer senere.

9.3 - Adsorpsjon av naturlige anti-sauagglutinin ved agglutineringskontrollen

- Rist reagenset grundig **R3**.
- Fordel i et rør og bland:
 - 0,1 mL serum;
 - 0,3 mL reagens **R3**.
- Inkuber i 60 minutter ved romtemperatur.
- Sentrifuger ved 2000 rpm i 15 minutter.
- Samle supernatanten: serumet fortyntes deretter 1/4.
- Fortynn supernatanten 1/10 i reagens **BUF** for å oppnå en maternell fortynting (1/40) adsorbent.
- Gjenta "Microplate Assay" -protokollen ved å bytte ut fortyntingen med den adsorbente lagerfortyningen.

10 - LESING

Negativ reaksjon: Fravær av hemagglutinasjon.
Tilstedeværelse av en ring mer eller mindre bred på bunnen av koppen.

Positiv reaksjon: Nærvær av hemagglutinasjon.
Tilstedeværelse av et rødt / brunt slør som forer koppen; Noen ganger er det en fin perifer grense.

Eksempel: Serum positiv ved 1/1280



11 - TOLKNING AV RESULTATENE

Titre < 1/80 :	Negativ reaksjon. Sannsynlig fravær av vev amoebiasis.
1/80 ≤ Titre ≤ 1/160:	Tvilsom reaksjon. Enckontroll må utføres ved å bruke elektrosyneres teknikk, agglutinasjon latex (ELITex Bicolor Amoeba) og indirekte immunofluoresens.
Titre > 1/320:	Reaksjon signifikant i favør av visceral amibiase.

12 - INTERN KVALITETSKONTROLL

Reagensene **KONTROLL+ og KONTROLL-** må behandles som serum for analyse. Reagens tittel **CTRL +** må være lik tittelen angitt på hetteglasset med ± 1 fortynting. Reagenset **kontroll-** må ha et fravær av hemagglutinasjon. Hvis dette ikke er tilfelle, er testen ikke gyldig.

13 - FEILÅRSAKER OG GRENSE FOR PRØVER

- Dårlig oppbevaring av serumet.
- Feil lagring av reagenser etter åpning.
- Bruk bare dråpetellerne som følger med i esken.
- Ikke utveksle dråpetellerne mellom reagenser **R1** og **R2**.
- I tilfelle en positiv reaksjon i de første 6 koppene, fortsett fortyntingene for å finne grensehemagglutineringsstiteren.
- Serumkontrollen skal gi en negativ reaksjon (ring). I tilfelle haemagglutinasjon av denne kontrollen, er det nødvendig å gjenta testen etter å ha eliminert de naturlige anti-sau-agglutinin fra serumet ved adsorpsjon.
- Den reaktive kontrollen må gi en negativ reaksjon (ring). I tilfelle hemaagglutinasjon av dette vitnet, er reagensen **ELI.H.A Amoeba** ikke brukbar.
- Noen sera, hvis antistoffkonsentrasjon er svært høy, kan gi opphav til et sonefenomen (med tilbakevekst av sløret) i de første fortyntninger, som forsvinner i de følgende fortyntninger.
- Kvaliteten på reagensene gjør det mulig å utføre reaksjonen om kvelden og å utføre lesingen neste morgen, forutsatt at mikroplaten ikke undergår noen forskyvning og er immun mot vibrasjoner.
- I alle tilfeller og før den endelige diagnosen er utført, må tolkningen av testen utføres ved å integrere alle kliniske data og resultatene fra andre tester.

14 - YTELSER

ELI.HA Amoeba består av røde blodlegemer sensibilisert med et antigen *Entamoeba histolytica*, oppnådd ved aksenisisk kultur. Det sikrer sensitivitet og spesifisitet til reaksjonen.
Så, resultatene av reagentevalueringene **ELI.HA Amoeba** viser følsomhet på 93 % og en spesifisitet på 97 %.

15 - AVHENDING AV AVFALL

Avfall skal kastes i henhold til de hygieniske regler og forskrifter som gjelder for denne typen reagenser i brukerlandet.
Ved utilsiktet betaling av reagens **BUF**, rengjør arbeidsflaten med absorberende papir og skyll med vann. Hvis du har serum eller annen reagens, rengjør du med blekemiddel og papirhåndklær.

16 – REFERANSER

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. EIJK, 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 amebiasis - *J. Clin. Microbiol.*, 1990, 28(6), 1422-1424.

Endringer fra forrige versjon er uthevet i grått.

ELITech MICROBIO
Parc d'activités du Plateau
Allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
☎ : 33 (0)4 94 88 55 00
http://www.elitechgroup.com

