

13 – PŘÍČINY CHYB A LIMITY TESTU

- Špatné skladování séra.
- Špatné skladování reagensů po otevření.
- Používejte pouze kapátka dodaná v sadě.
- Používejte pouze destičky dodané v sadě s jamkami s dnem ve tvaru písmene U.
- Nesměňujte kapátka mezi činidly R1 a R2.
- V případě pozitivní reakce v prvních 6 jamkách proveďte další sériové ředění, abyste určili limit titru hemaglutinace.
- Kontrolní sérum musí vykazovat negativní reakci (kroužek). V případě hemaglutinace této kontroly bude nutné test opakovat po odstranění přirozených antiočích aglutininů ze séra adsorpcí.
- Kontrolní reagentie musí vykazovat negativní reakci (kroužek). V případě hemaglutinace této kontroly nelze soupravu ELI.H.A *Echinococcus* použít.
- Některá séra s velmi vysokou koncentrací protilátek mohou v počátečních ředěních vyvolat zónový jev (s vymizením zakalení), který v následujících ředěních zmizí.
- Kvalita reagensů umožňuje provést reakci večer a odečíst výsledek testu následujícího rána, za předpokladu, že se mikrotitrační destička nijak nepohybuje a je chráněna před jakýmkoli zdrojem vibrací.
- Nepoužívejte znovu jamku, která již byla použita k provedení testu.
- Francouzská nomenklatura pro lékařsko-biologické postupy stanoví, že při sérologickém screeningu echinokokózy musí být vyhledáván protilátek *proti Echinococcus* prováděno pomocí dvou různých technik. To proto, aby bylo možné vyloučit jakékoli neznámé interferenty. Celková interpretace této sérologie musí proto vycházet z výsledků různých použitých technik. Ve všech případech je nutné před stanovením konečné diagnózy plně zohlednit klinické, epidemiologické a biologické údaje.
- Bez pohybu nebo vibrací mikrotitrační destičky lze test provést večer a výsledky odečíst následujícího rána (tj. po maximální reakční době 24 hodin).

14 – VÝKON

14.1 – ANALYTICKÝ VÝKON

14.1.1 – Opakovatelnost

U pozitivního séra má zařízení 100% opakovatelnost s přijatelnou tolerancí jednoho rozdílu v jamce. U negativního séra má zařízení 100% opakovatelnost bez tolerance pro pozitivitu ve výsledku. Jamky pro kontrolu séra a kontrolu reagensů mají 100% opakovatelnost.

14.1.2 – Reprodukovatelnost

U pozitivního séra má zařízení 100% reprodukovatelnost s přijatelnou tolerancí jednoho rozdílu v jamce. U negativního séra má zařízení 100% reprodukovatelnost bez tolerance pro pozitivitu ve výsledku. Jamky pro kontrolu séra a kontrolu reagensů mají 100% reprodukovatelnost.

14.1.3 – Interference

Vzhledem k vysoké genetické homologii mezi dvěma druhy *Echinococcus*: *E. multilocularis* a *E. granulosus*, jsou nutné sekundární testy k vyloučení křížové reaktivity (9). Křížové reakce byly pozorovány u pozitivních vzorků na protilátky *proti Fasciola* nebo protilátky *proti S. mansoni* (2). Křížové reakce byly pozorovány u vzorků od pacientů s toxoplazmózou, HIV, EBV, aspergilózou, filariózou a klonorchózou (1,3).

Byla studována potenciální interference s hemoglobinem, lipidy a bilirubinem podle doporučení CLSI EP07 (4,5,6,7,8). Nebyla zjištěna žádná významná interference až do následujících maximálních koncentrací:

Testované látky	Maximální koncentrace
Bilirubin	800 mg/l
Lipidy	15 g/l
Hemoglobin	10 g/l

Důkladný přehled literatury nám umožnil vyloučit potenciální lékové interakce a zároveň co nejvíce snížit riziko spojené s dosud neidentifikovanými interferenty.

14.2 – KLINICKÁ ÚČINNOST

ELI.H.A *Echinococcus* se skládá z červenýchrvinek senzibilizovaných antigenem *Echinococcus granulosus*. Zajišťuje citlivost a specifitu reakce. Studie 221 lidských sér prokázala citlivost 93,0 % (bez ohledu na umístění cysty) a specifitu 94,9 %. Srovnání s testy IFI a ELISA ukázalo pozoruhodnou komplementaritu mezi těmito různými reakcemi (1).

Klinická účinnost soupravy ELI.H.A *Echinococcus* byla hodnocena na základě přehledu vědecké literatury založeného na pěti publikacích z let 2009 až 2023 (2,10,11,12,13). Byly získány následující výsledky:

Tabulka 1: Klinická výkonnost pro prahovou hodnotu 1/160

Studie	Studie č. 4 [12]
Rok vydání	2023
Populace	23 vzorků séra od pacientů s podezřením na cystickou echinokokózu
Srovnávací metoda (referenční standard)	Histopatologické vyšetření
Citlivost 1/160	94 % ^a
Specifita 1/160	100 % ^a
PPV ^a 1/160	100 % ^a
NPV ^a 1/160	85,7 % ^a

Tabulka 2 a 3: Klinická výkonnost pro prahovou hodnotu 1/320

Studie	Studie č. 1 [10]			Studie č. 2 [11]	Studie č. 3 [2]		
Rok vydání	2009			2024	2010		
Populace	19 vzorků séra od pacientů s plícními hydatidovými cystami	40 vzorků séra od pacientů s parazitózou a jinými plícními onemocněními	20 vzorků séra od zdravých jedinců	74 vzorků séra od pacientů s podezřením na cystickou echinokokózu (51 žen a 23 mužů ve věku od 3 do 86 let)	30 séra od pacientů s cystickou echinokokózou a bez jiné parazitologické infekce	30 séra od pacientů s jinými parazitózami. <i>S. mansoni</i> (n=6), <i>Fasciola</i> (n=6), <i>H. nana</i> (n=6), <i>E. histolytica</i> (n=6) a <i>Giardia lamblia</i> (n=6).	10 vzorků séra od pacientů bez parazitózy
Srovnávací metoda (referenční standard)	Provozní výsledky	NA	NA	Výsledky klinických a radiologických zpráv	Klinická analýza a chirurgický zákrok	NA	NA
Citlivost 1/320	73,6			70,8	86,7		
Specifičnost 1/320	98,3			96,2	95		
PPV ^a 1/320	93,3			97,1	92,9		
NPV ^a 1/320	92,1			64,1	90,5		

Studie	Studie č. 4 [12]	Studie č. 5 [13]		
Rok vydání	2023	2016		
Populace	23 séra od pacientů s podezřením na cystickou echinokokózu	18 séra od dětí s cystickou echinokokózou	27 vzorků séra od dospělých s cystickou echinokokózou	20 vzorků séra od zdravých jedinců
Srovnávací metoda (referenční standard)	Histopatologické vyšetření	Klinické vyšetření a lékařské zobrazování		
Citlivost 1/320	82,4 % ^a	88,9 % ^a		
Specifita 1/320	100 % ^a	100 % ^a		
PPV ^a 1/320	100 % ^a	100 % ^a		
NPV ^a 1/320	66,7 % ^a	80 % ^a		

- ^a: PPV: Pozitivní prediktivní hodnota
- ^a: NPV: negativní prediktivní hodnota
- ^a: Hodnota vypočítaná společností ELITech Microbio

Ve vědecké literatuře jsou klinická senzitivita a specifita pro prahovou hodnotu významnosti 1/160 94 % a 100 %. Při prahové hodnotě významnosti 1/320 se klinická senzitivita a specifita pohybují v rozmezí 73,6 až 88,9 % a 95 % až 100 %. Při prahové hodnotě významnosti 1/160 je PPV 100 % a NPV 85,7 %. Pro prahovou hodnotu významnosti 1/320 se PPV pohybuje v rozmezí 92,86 % až 100 % a NPV v rozmezí 66,67 % až 92,1 %.

15 – LIKVIDACE ODPADU

Odpad by měl být likvidován v souladu s hygienickými pravidly a platnými předpisy pro tento druh produktu v zemi použití. Pokud dojde k rozliti činidla BUF, očistěte pracovní plochu absorpčním papírem a opláchněte vodou. Pokud dojde k rozliti séra jiného činidla na pracovní plochu, očistěte ji pomocí bělidla a absorpčního papíru.

16 – BIBLIOGRAFIE

1. P. AMBROISE-THOMAS, P.-T. DESGEORGES, M. BAYARD, A. GROS – Nepřímá hemaglutinace v sérologické diagnostice hydatidózy. Srovnání s nepřímou imunofluorescencí a technikou ELISA – Lyon Médical, 1979, 241, 755-759.
2. El-Shazly AM, Saad RM, Belal US, Sakr T, Zakae HA. Hodnocení ELISA a IHAT v sérologické diagnostice prokázaných případů hydatidózy u lidí. J Egypt Soc Parasitol. 2010;40(2):531-538.
3. Van Doorn HR, Hofwegen H, Koelewijn R, et al. Spolehlivá sérologická diagnostika importované cystické echinokokózy pomocí komerčního nepřímého hemaglutinačního testu. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007;57(4):409-412.
4. Lo SY, Saifee NH, Mason BO, Greene DN. Vylnění mezer nestandardními tělinami tekutinami. Pract Lab Med. 16. března 2016; 5:24-31. doi: 10.1016/j.plabm.2016.03.003. PMID: 26856201; PMCID: PMC5574517.
5. CLSI. Testování interference v klinické chemii. 3. vydání. Směrnice CLSI EP07. Wayne, Pa: Institut pro klinické a laboratorní standardy; 2018. str. 23–24.
6. CLSI. Doplnkové tabulky pro testování interference v klinické chemii. 1. vydání. Doplněk CLSI EP37. Wayne, Pa: Institut pro klinické a laboratorní standardy; 2018. str. 94–96.
7. Hyperbilirubinémie néonatale - Pédiatrie - Édition professionnelle du Manuel MSD § Étologie de l'hyperbilirubinémie néonatale str. 5 (msdmanuals.com)
8. Bilirubin – Biologické normy – Kurz IFSI – Fiches IDE \$Présence d'ictère p3 (fiches-ide.fr)
9. Schwarz NG, Loderstaedt U, Hahn A, et al. Mikrobiologická laboratorní diagnostika zanedbávaných zoonotických onemocnění (NZDs). Acta Trop. 2017;165:40-65. doi:10.1016/j.actatropica.2015.09.003
10. Eris FN, Akisu C, Aksay U. Hodnocení dvou testů ELISA a dvou nepřímých hemaglutinačních testů pro sérologickou diagnostiku plícní hydatidózy. Korean J Parasitol. 2009;47(4):427-429. doi:10.3347/kip.2009.47.4.427
11. Erganis, S., Sarzhanov, F., Al, F.D. et al. Srovnání metod v sérologické diagnostice cystické echinokokózy. Acta Parasit. **69**, 1122–1131 (2024). https://doi.org/10.1007/s11686-024-00840-z
12. Yülek Ö, Genç Bağcı Y, Demir H. Význam nepřímého hemaglutinačního testu v diagnostice cystické echinokokózy: sérologicko-histopatologická korelace. Cerrahpaşa Med J. 2023;47(2):129-134.
13. El-Ghareeb AS, Waked NM, Al-Feky HM. KLINICKÉ A PARAZITOLOGICKÉ STUDIE PLÍCNÍCH A JATERNÍCH HYDATIDOVÝCH CYST U HOSPITALIZOVANÝCH DĚTÍ A DOSPĚLÝCH. J Egypt Soc Parasitol. 2016;46(1):9-18. doi:10.12816/0026145

Jakýkoli závažný incident související se zařízením musí být nahlášen výrobcí a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém je uživatel usazen.

Změny oproti předchozí verzi jsou zvýrazněny šedou barvou.