

ELI.H. A *Echinococcus*

Serodiagnose der Hydatidose durch indirekte Hämagglutination

102 Tests

(Artnr. 66604)

8000140-DE-2012-01

Nur zur *in vitro*-Diagnose bestimmt und nur für professionelle Anwendung. Einweg-Tests.



1 - ZIEL

ELI.H. A *Echinococcus* ermöglicht die quantitative Bestimmung von Serumantikörpern gegen *Echinococcus granulosus* durch indirekte Hämagglutination.

Mit dem Kit können 102 Tests oder 17 Reaktionen mit 6 Verdünnungen durchgeführt werden.

2 - EINLEITUNG

Hydatidose oder Echinokokkose ist eine parasitäre Erkrankung, die der Entwicklung der Larve (Hydatide) einer Cestode der Gattung *Echinococcus* im Zwischenwirt, einschließlich des Menschen, entspricht. Der Kreislauf von *Echinococcus granulosus* bezieht den Hund als Endwirt ein sowie das Schaf, oder seltener Menschen als Zwischenwirte.

Die Lokalisation des Hydatids auf Leberebene ist am häufigsten (50 bis 70 %), gefolgt von einer Lokalisation in der Lunge (25 bis 40 %).

Die Hydatidose bei *Echinococcus granulosus* zeichnet sich durch seine langsame Entwicklung und heimtückische Erscheinung aus. Sie bleibt wenig symptomatisch und die biologische Diagnose wird hauptsächlich immunologisch durch Antikörpertests durchgeführt.

3 - PRINZIP

ELI.H. A *Echinococcus* basiert auf dem Prinzip der indirekten Hämagglutination. Die sensibilisierten roten Blutkörperchen bestehen aus roten Blutkörperchen von Schafen, die mit einem *Echinococcus granulosus*-Antigen beschichtet sind. Das Vorhandensein von Serumantikörpern gegen *Echinococcus granulosus* bewirkt, dass sensibilisierte rote Blutkörperchen zusammenklumpen, was zu einem roten/braunen Schleier führt, der die Vertiefung bedeckt. In Abwesenheit spezifischer Antikörper setzen sich diese roten Blutkörperchen in Form eines Rings am Boden der Vertiefung ab. Die nicht sensibilisierten roten Blutkörperchen liefern die Spezifität der Reaktion und ermöglichen die Beseitigung der Interferenzen durch natürliche Anti-Schaf-Agglutinine (Forssman-Hetero-Antikörper, Antikörper gegen infektiöse Mononukleose usw.).

Die Reaktion findet in einer U-förmigen Mikrotiterplatte statt.

Die Handhabung ist schnell und einfach. Die Ergebnisse werden in nur 2 Stunden erhalten.

4 - REAGENZEN UND MATERIAL

Beschreibung	Anzahl
R1: 2,2-ml-Durchstechflasche mit sensibilisierten roten Blutkörperchen	1
R2: 1-ml-Durchstechflasche mit nicht-sensibilisierten roten Blutkörperchen	1
BUF: 55-ml-Durchstechflasche mit Phosphatpuffer, pH 7,2	1
R3: 2-ml-Durchstechflasche mit Adsorbens	1
CONTROL+: 0,2-ml-Durchstechflasche mit titrierter Positivkontrolle	1
CONTROL -: 0,2-ml-Durchstechflasche mit Negativkontrolle.	1
MICROPLATE: U-förmige Mikrotiterplatte	2
DROPPER: spezieller Tropfer	2

5 - VORSICHTSMASSNAHMEN BEI DER ANWENDUNG

Reagenzien sind nur zur *in vitro*-Diagnose bestimmt und sollten von autorisiertem Personal behandelt werden.

Die Tests sind für den einmaligen Gebrauch bestimmt.

Alle Reagenzien außer dem Reagenz **BUF**, enthalten Substanzen tierischen Ursprungs und sollten mit Vorsicht behandelt werden.

Die Proben sind möglicherweise ansteckend. Sie müssen mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und in Übereinstimmung mit den Hygienevorschriften des Verwendungslandes behandelt werden.

CONTROL-Durchstechflaschen enthalten Natriumazid (Konzentration <0,1 %).

Verwenden Sie keine Reagenzien nach dem Verfallsdatum.

Verwenden Sie keine Reagenzien aus verschiedenen Chargen.

Warten Sie, bis das Serum und die Reagenzien Raumtemperatur erreicht haben.

Schütteln Sie die Reagenzien **R1** und **R2** vor Gebrauch vorsichtig.

Bei der Verabreichung von Reagenzien **R1** und **R2** muss vorab sichergestellt sein, dass der Tropfer perfekt senkrecht steht. Stellen Sie sicher, dass sich keine Luftblasen in den Tröpfchen befinden, damit die abgegebenen Mengen konstant sind.

6 - SAMMLUNG UND VERARBEITUNG VON PROBEN

Verwenden Sie frische Seren oder Seren, die bei -20 ° C gelagert wurden und keine trübe Hämolyse oder Kontamination aufweisen.

Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

Teilen Sie das Serum niemals in seine einzelnen Bestandteile.

7 - LAGERUNG UND ZUBEREITUNG VON REAGENZEN

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Alle bei 2-8 ° C gelagerten Reagenzien sind bis zum auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum stabil. Sie dürfen nicht eingefroren werden.

8 - ERFORDERLICHES, ABER NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIAL

- Automatische Pipette(n) mit einem an die zu messende Menge angepassten Pipettierolumen;
- Behälter für kontaminiertes Abfallmaterial;
- Zentrifuge;
- Hämolyseröhrchen.

9 - VORGEHENSWEISE

Lassen Sie die Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur kommen.

9.1 - Vorbereitung der Probe

Verdünnen Sie das zu testende Serum auf 1/40:

- 50 µl Serum;
- 1,95 ml Reagenz **BUF**.

9.2 - Durchführung des Tests auf Mikrotiterplatte

Übertragen Sie mit einer Mehrkanal-Mikropipette 50 µl Reagenz **BUF** in 8 Vertiefungen der Mikrotiterplatte.

Übertragen Sie mit einer Mikropipette 50 µl des verdünnten Serums in die erste Vertiefung.

Mit dem Reagenz **BUF** mischen und vorzugsweise mit Hilfe eines „tulpenförmigen“ Mikroverdünners 50 µl der ersten Vertiefung in die zweite Vertiefung, von der zweiten Vertiefung in die dritte Vertiefung und so weiter bis zur sechsten Vertiefung übertragen, wobei 50 µl der sechsten Vertiefung weggeworfen werden.

Dies führt zu Verdünnungen von 1/80 bis 1/2560.

Übertragen Sie 50 µl des verdünnten Serums auf die siebte Vertiefung. Mit dem Reagenz **BUF** mischen und 50 µl wegwerfen.

Diese Verdünnung (1/80) stellt die Serumkontrolle dar, deren Aufgabe es ist, die natürlichen Anti-Schaf-Agglutinine nachzuweisen, die bestimmte Seren enthalten können.

Schütteln Sie die Reagenzien **R1** und **R2** vorsichtig.

- Übertragen Sie einen Tropfen des Reagenz **R1** in die ersten 6 Vertiefungen.
- Übertragen Sie einen Tropfen des Reagenz **R2** in die siebte Vertiefung (Serumkontrolle).
- Übertragen Sie einen Tropfen des Reagenz **R1** in die achte Vertiefung (Reagenzienkontrolle), die dazu dient, die Gültigkeit des Reagenzes **BUF** und des Reagenzes **R1** zu überprüfen.

Hinweis: Führen Sie nur eine Reagenzienkontrolle pro Testreihe durch.

Homogenisieren Sie den Inhalt der Vertiefungen sehr sorgfältig:

- entweder von Hand durch Antippen der Seiten der flach positionierten Mikrotiterplatte;
- oder mittels eines Mikrotiterplatten-Vibrationsrührers (zum Beispiel 1300 U/min für eine Dauer von 10 Sekunden). Verwenden Sie keinen runden Rührer.

Lassen Sie die Platte dann bewegungslos und völlig vibrationsfrei liegen.

Lesen Sie die Reaktion 2 Stunden später ab.

9.3 - Adsorption natürlicher Anti-Schaf-Agglutinine im Fall von Agglutination der Serumkontrolle

Schütteln Sie das Reagenz **R3** vorsichtig.

Geben Sie es in ein Röhrchen und mischen Sie es mit:

- 0,1 ml Serum;
- 0,3 ml Reagenz **R3**.

Lassen Sie es 60 min lang bei Raumtemperatur inkubieren.

15 Minuten lang bei 2000 U/min zentrifugieren.

Sammeln Sie den Kulturüberstand ein. Das Serum wird dann auf 1/4 verdünnt.

Verdünnen Sie den Kulturüberstand in Reagenz **BUF** auf 1/10, um eine adsorbierte Mutterverdünnung (1/40) zu erhalten.

Wiederholen Sie das Protokoll „Durchführung des Tests auf Mikrotiterplatte“ und ersetzen Sie die Mutterverdünnung durch die adsorbierte Mutterverdünnung.

10 - ABLESEN

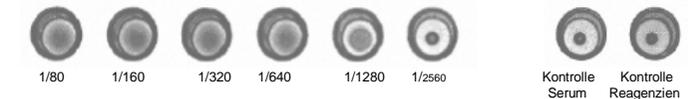
Negative Reaktion: Keine Hämagglutination.

Vorhandensein eines mehr oder weniger breiten Rings am Boden der Vertiefung.

Positive Reaktion: Vorhandensein von Hämagglutination.

Vorhandensein eines roten/braunen Schleiers, der die Vertiefung bedeckt; Vorhandensein eines dünnen Umfangstreifens.

Beispiel: Serum positiv bei 1/1280



11 - AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Titer <1/160: Unbedeutendes Ergebnis.

Wahrscheinliches Fehlen einer Hydatidose. Wiederholen Sie den Test 2 bis 3 Wochen später und wenden Sie Elektrosynthese oder Immunelektrophorese an.

Titer = 1/160:

Unzuverlässige Reaktion.

Wiederholen Sie den Test 2 bis 3 Wochen später und verwenden Sie Elektrosynthese oder Immunelektrophorese.

Titer ≥1/320:

Signifikante Reaktion zugunsten einer progressiven Hydatidose.

12 - INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Die Reagenzien **CONTROL+** und **CONTROL-** müssen während der Analyse als Serum behandelt werden. Der Titer des Reagenzes **CONTROL+** muss dem auf dem Etikett des Fläschchens angegebenen Titer bei ± einer Verdünnung entsprechen. Das Reagenz **CONTROL-** darf keine Hämagglutination aufweisen. Wenn dies nicht der Fall ist, ist der Test ungültig.

13 - URSACHEN VON FEHLERN UND EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTS

Schlechte Lagerung des Serums.

Schlechte Lagerung der Reagenzien nach dem Öffnen.

Verwenden Sie nur die im Kit enthaltenen Tropfer.

Tauschen Sie die Tropfer nicht zwischen den Reagenzien **R1** und **R2** aus.

Wenn die Reaktion in den ersten 6 Vertiefungen positiv ist, müssen Sie mit den Verdünnungen fortfahren, um den Grenzwert für den Hämagglutinationstiter zu ermitteln.

- Die Serumkontrolle muss ein negatives Ergebnis (Ring) aufweisen. Im Falle einer Hämagglutination dieser Kontrolle muss der Test wiederholt werden, nachdem die natürlichen Anti-Schaf-Agglutinine durch Adsorption aus dem Serum entfernt wurden.
- Die Reagenzienkontrolle muss ein negatives Ergebnis (Ring) aufweisen. Im Falle einer Hämagglutination bei dieser Kontrolle, handelt es sich um ein **ELI.H. A. Echinococcus**-Reagenz, das nicht gebraucht werden kann.
- Einige Seren, deren Antikörperkonzentration sehr hoch ist, können bei den ersten Verdünnungen ein Zonenphänomen (mit Zurückziehen des Schleiers) verursachen, das mit den folgenden Verdünnungen verschwindet.
- Die Qualität der Reagenzien ermöglicht die Durchführung der Reaktion am Abend und die Ablesung am nächsten Morgen, sofern die Mikrotiterplatte nicht bewegt wird und vor Vibrationen geschützt ist.
- In allen Fällen und bevor die endgültige Diagnose gestellt wird, sollte die Interpretation des Tests unter Einbeziehung aller klinischen, epidemiologischen und biologischen Daten und der Ergebnisse anderer Tests erfolgen.

14 - LEISTUNGEN

ELI.H. A Echinococcus besteht aus roten Blutkörperchen, die durch ein Antigen von *Echinococcus granulosus* sensibilisiert wurden. Dies garantiert Sensitivität und Spezifität für die Reaktion.

Eine Studie mit 221 Humanseren zeigte eine Sensitivität von 93,0 % (unabhängig von der Position der Zysten) und eine Spezifität von 94,9 %. Vergleiche mit dem IFI- und dem ELISA-Test haben gezeigt, dass sich diese unterschiedlichen Reaktionen bemerkenswert ergänzen (2).

15 - ABFALLENTSORGUNG

Abfälle müssen gemäß den Hygienevorschriften und Gesetzen entsorgt werden, die im Verwendungsland für diese Art von Produkt gelten.

Bei versehentlichem Verschütten des Reagenz **BUF**: Reinigen Sie die Arbeitsfläche mit saugfähigem Papier und spülen Sie sie mit Wasser ab. Wenn Serum oder ein anderes Reagenz verschüttet wird: Mit Bleichmittel und saugfähigem Papier reinigen.

16 - LITERATURVERZEICHNIS

1. A. CAPRON, L. YARZABAL, A. VERNES, J. FRUIT - Le diagnostic immunologique de l'échinococcose humaine - *Path. - Biol.*, 1970, Vol. 18, Nr. 7-8, 357-368.
2. P. AMBROISE-THOMAS, P.-T. DESGEORGES, M. BAYARD, A. GROS - L'hémagglutination indirecte dans le séro-diagnostic de l'hydatidose. Comparaison avec l'immunofluorescence indirecte et la technique ELISA - *Lyon Médical*, 1979, 241, 755-759.
3. P. WATTRE, M. CAPRON, A. BEKHTI, A. CAPRON - Diagnostic immunologique de l'Hydatidose - *La nouvelle presse médicale*, 1980, 9, Nr. 5, 305-309.
4. P. PESSON, N. LEGER, G. MADULO-LEBLOND - Diagnostic immunologique en parasitologie et en mycologie - *Le Pharmacien Biologiste*, Band XIII, Nr. 123, 417/55-60.

Die Änderungen gegenüber der Vorgängerversion sind grau hervorgehoben.



ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau
allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE

Tel: +33 (0) 4 94 88 55 00
Fax: +33 (0) 4 94 32 82 61
<http://www.elitechgroup.com>