

ELI.H.A *Echinococcus*

A hidatidózis serodiagnosis közvetett
haemagglutináció útján
102 tests
(Réf. 66604)

8000140-HU-2012-01

Kizárólag *in vitro* diagnosztizhoz, csak professzionális használatra.
A tesztek egyszer használatosak.



1 - CÉL

ELI.H.A *Echinococcus* lehetővé teszi az *Echinococcus granulosus* ellen irányuló szérum antitestek meghatározását indirekt haemagglutináció útján.

A készlet 102 teszt vagy 17 darab 6 odatos reakció elvégzését teszi lehetővé.

2 - BEVEZETÉS

A hidatidózis vagy echinococcosis egy parazita betegség amely a köztigazda, például az ember *Echinococcus* típusú galandféreg lárvá (hydatide) fejlődéséhez kapcsolódik. Az *Echinococcus granulosus* ciklusa következtében belép a kutya mint végleges gazda, és a bárány, vagy ritkább esetben az ember mint köztigazda.

A hydatid leggyakrabban (50-70%-ban) a májban jelenik meg, majd ezt követően a tüdőben (az esetek 25-40%-ában).

Az *Echinococcus granulosus* hidatidózist lassú kialakulás és lappangó természet jellemzi. Kévs tünetet mutat, és a biológiai diagnózis lényegében immunológiai diagnózis, antitestkutatás révén.

3 - ELV

ELI.H.A Az *echinococcus* az indirekt haemagglutináció elvére épül.

Az érzékenyebbített vörösvértestek *Echinococcus granulosus* antigénnel borított bárány vörösvértestekből állnak.

Az anti-*Echinococcus granulosus* szérum antitestek az érzékenyebbített vörösvértestek agglutinációját idézik elő, ami egy vörös / gesztenye színű fátolszönyegként jelenik meg a csészén. Specifikus antitestek hiányában ezek a vörösvértestek karika formájú üledékként jelennek meg a csésze alján. A nem szentizált vörösvértestek biztosítják a reakció specifikusságát, és lehetővé teszik a természetes anti-juh agglutininnek (Forsman heteroantitestek, fertőző mononukleózis antitestek stb.) okozta interferenciák kiküszöbölését. A reakciót U-alapú mikrolemezen végezzük.

A kezelés egyszerű és gyors. Az eredményeket 2 órán belül megkapjuk.

4 - REAGENSEK ÉS ANYAGOK

Leírás	Mennyiség
R1 : 2,2 mL üveg szentizált vörösvértest	1
R2 : 1 mL üveg nem szentizált vörösvértest	1
BUF : 55 mL foszfátpuffer pH 7,2	1
R3 : 2 mL üveg adszorbens	1
CONTROL + : 0,2 mL üveg pozitív kontroll titer	1
CONTROL - : 0,2 mL üveg negatív kontroll	1
MICROPLATE : U-fenekű mikrolemez	2
DROPPER : speciális cseppszámláló	2

5 - ALKALMAZÁSRA VONATKOZÓ ÖVINTÉZKEDÉSEK

- A készlet reagenzeit kizárólag *in vitro* felhasználásra szánják, azokat arra jogosult személyeknek kell kezelniük.
- A tesztek egyszer használatosak.
- A BUF reagens kivételével az összes reagens tartalmaz állati eredetű anyagokat, megfelelő elővigyázatossággal kell őket kezelni.
- A minták potenciálisan fertőzésveszélyesek. A megfelelő övintézkedésekkel kell őket kezelni a higiéniai szabályok és az adott országban érvényes hatályos jogszabályok szerint.
- A CONTROL üvegek nátrium-azidot tartalmaznak (koncentráció < 0,1%).
- Ne használja fel a reageneket a lejáratú idejükön túl.
- Ne használjon különböző szállítmányokból származó reageneket.
- Vájon meg amíg a szérum és a reagenek egyensúlyba kerülnek szobahőmérsékleten.
- Használat előtt rázzuk fel alaposan az R1 és R2 reageneket.
- Az R1 és R2 reagensek adagolásakor győződjön meg róla, hogy a csepegtető teljesen függőleges. Ellenőrizze, hogy a cseppekben nincs-e légbuborék azért, hogy konstans legyen a rendelkezésre bocsátott mennyiség.

6 - A MINTÁK ÖSSZEJÚJTÁSA ÉS KEZELÉSE

Friss vagy tartósított szérumot használjunk -20 °C-on, amelyek nem mutatnak hemolízist, nem zavarosak, nem szennyezettek.

Kerülje az ismételt fagyasztást és felolvasztást.

Ne szedje le a szérumot.

7 - REAGENSEK MEGŐRZÉSE ÉS ELKÉSZÍTÉSE

A reagensek használatra készek.

Minden 2-8 °C-on tárolt reagens a készleten feltüntetett lejáratú időig tartható el. Nem szabad fagyasztani.

8 - SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT ESZKÖZÖK

- Automatikus pipetták a mérendő mennyiséghez igazított pipetta mennyiséggel;
- Tartályok szennyezett hulladékhöz;
- Centrifuga;
- Kémcső hemolízishez.

9 - MŰKÖDÉS

Használat előtt szilárdítsa meg a reageneket szobahőmérsékleten.

9.1 - A minta előkészítése

Hígítsuk a tesztserumot 1/40 arányban:

- 50 µL szérum ;
- 1,95 mL BUF reagens.

9.2 - A teszt elvégzése mikrolemezen

- Egy többszoros mikropipettával 50 µL BUF reagenst adagolunk a mikrotiterlemez 8 mélyedésébe.

- Mikropipettával 50 µL hígított szérumot adagolunk az első mélyedésbe.

Keverjük össze a BUF reagenssel és lehetőleg mikrohigítóanyagot ("tulipánt") használva vigyük át 50 µL-t az első mélyedésből a másodikba,^a másodikból a harmadikba,^a és így tovább a hatodik mélyedésig, a 6. mélyedés 50 µL folyadékát eldobva.

Így 1/80 és 1/2560 közötti hígításokat kapunk.

- Adjunk 50 µL hígított szérumot a 7. mélyedésbe.

Keverjük össze a BUF reagenssel és dobjunk el 50 µL-t.

Ez a hígítás (1/80) a szérumkontroll, amelynek szerepe olyan természetes anti-juh agglutininnek kimutatása, amelyek bizonyos szérumokat tartalmazhatnak.

- Rázzuk fel alaposan az R1 és R2 reageneket.

- Tegyük 1 csepp R1 reagenst az első 6 mélyedésbe.
- Tegyük 1 csepp R2 reagenst az első 7 mélyedésbe (szérumkontroll).
- Tegyük 1 csepp R1 reagenst a 8. mélyedésbe (reagens kontroll), ennek a szerepe a BUF reagens és az R1 reagens érvényességének az ellenőrzése.

Megjegyzés : Tesztsorozatonként csak egy reagens kontrollt végezzünk.

- A mélyedések tartalmát nagyon óvatosan homogenizáljuk:

- kézzel, oldalirányú ütögetésekkel a mikrolemez oldalain, laposan letéve;
- vagy mikrotitráló lemezek vibrációs keverőjével (például 1300 fordulat / perc 10 másodpercig). Ne használjunk körkörös rázógépet.

- Ezután a lemezt hagyja érintetlenül, ne érje semmiféle vibráció.

- 2 órával később olvassa le a reakciót.

9.3 - A természetes anti-juh agglutininnek adszorpciója a szérumkontroll agglutinációja esetén

- Rázza fel alaposan az R3 reagenst.

- Adagolja egy kémcsőbe és keverje össze:

- 0,1 mL szérum;
- 0,3 mL R3 reagens.

- Hagyja inkubálódni 60 percen keresztül szobahőmérsékleten.

- Centrifugálja 2000 ford/perc sebességgel 15 percen keresztül.

- Gyűjtsé össze a felüliszót; a szérumot ekkor 1/4 arányban hígítva.

- Hígítsuk fel a felüliszót 1/10 arányban a BUF reagensben, hogy adszorbeált törzsoldat hígítást (1/40) kapjunk.

- Ismételjük meg a "Teszt elvégzése mikrolemezen" műveleteit, a törzsoldatot hígítást cseréljük adszorbeált törzsoldat hígításra.

10 - LEOLVASÁS

Negatív reakció :

Nincs haemagglutináció.

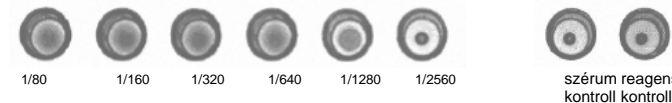
Viszonylag nagy karika látható a mélyedés alján.

Pozitív reakció :

Van haemagglutináció.

Vörös/gesztenyeszínű fátolfüggöny jelenik meg a mélyedésben; időnként egy vékony szegély is megjelenik.

Példa : Pozitív szérum 1/1280



11 - AZ EREDMÉNYEK ÉRTELMEZÉSE

Titer < 1/160 :

Nem jelentős reakció.

Valószínűleg nincs hidatidózis.

Meg kell ismételni a tesztet 2 - 3 héttel később, és társítani kell egy elektroszinerézist vagy egy immunoelektrofórezist.

Titer = 1/160 :

Kétséges reakció.

Meg kell ismételni a tesztet 2-3 héttel később, és társítani kell egy elektroszinerézist vagy egy immunoelektrofórezist.

Titer ≥ 1/320 :

Fejlődési hidatidózis szempontjából jelentős reakció.

12 - BELSŐ MINŐSÉGI ELLENŐRZÉS

A CONTROL+ és CONTROL- reageneket analizálandó szérumként kell kezelni. A CONTROL+ reagens titerének egyenlőnek kell lennie az üveg címkéjén jelölt titerrel ± hígítással. A CONTROL- reagensben nem lehet haemagglutináció. Ha ez nem így van, a teszt nem érvényes.

13 - HIBÁK OKAI ÉS A TESZT KORLÁTAI

- A szérum nem megfelelő tárolása.

- A reagensek nem megfelelő tárolása nyitás után.

- Csak a készletben lévő csepegtetőket használja.

- Ne cserélje fel az R1 és R2 reagensek csepegtetőit.

- Pozitív reakció esetén az első 6 mélyedésben folytassa a hígításokat, hogy megtalálja a haemagglutinációs határérték titerét.

- A szérumkontrollnak negatív reakciót kell adnia (gyűrű). Ezen kontroll haemagglutinációja esetén meg kell ismételni a tesztet miután a természetes anti-bárány agglutinin a szérumból adszorpcióval eltávolítottuk.

- A reaktív kontrollnak negatív reakciót (gyűrűt) kell adnia. A kontroll haemagglutinációja esetén az ELI.H.A *Echinococcus* reagens nem használható.

- Egyes szérumok, amelyeknek az antitest koncentrációja nagyon magas, az első hígításokban zóna jelenséget okozhatnak (a fátol visszahúzásával), amely eltűnik a következő hígításokban.

- A reagensek minősége lehetővé teszi a reakció végrehajtását esténként, és a leolvasás másnap reggeli elvégzését, feltéve, hogy a mikrolemez nem mozdul el, és vibrációtól védve van.

- Minden esetben és a végső diagnózis megkezdése előtt a vizsgálat értelmezését a klinikai, járványügyi és biológiai adatok és a többi vizsgálat eredményeinek integrálásával kell elvégezni.

14 - EREDMÉNYEK

Az ELI.H.A *Echinococcus* *Echinococcus granulosus* antigénnel szentizált vörösvérsejtekből áll. Biztosítja a reakció szenzitivitását és specifikitását.

221 humán szérum vizsgálata 93,0% -os érzékenységet mutatott (függetlenül a tiszták elhelyezkedésétől) és 94,9% -os specifikitást. Az IFI-vel és az ELISA teszttel végzett összehasonlítások figyelemre méltó komplementaritást mutattak e különböző reakciók (2) tekintetében.

15 - HULLADÉKÁRTALMATLANÍTÁS

A hulladékot a felhasználási országban az ilyen típusú reagenekre vonatkozó hatályos higiéniai jogszabályoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.

A BUF reagens véletlen kiöntése esetén tisztítsa meg a munkafelületet nedvszívó papírral és öblítse le a vizsel. Ha kiönti a szérumot vagy egy másik reagenst, takarítsa le a fehérítővel és nedvszívó papírral.

16 - BIBLIOGRÁFIA

1. A. CAPRON, L. YARZABAL, A. VERNES, J. FRUIT - Le diagnostic immunologique de l'échinococose humaine - *Path. - Biol.*, 1970, Vol. 18, n° 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, n°5, 305-309.
4. P. PESSON, N. LEGER, G. MADULO-LEBLOND - Diagnostic immunologique en parasitologie et en mycologie - *Le Pharmacien Biologiste*, Tome XIII, n°123, 417/55-60.

A korábbi verziók módosításai szürke színnel vannak jelölve.

ELITech MICROBIO

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

☎ : 33 (0)4 94 88 55 00
Fax: 33 (0)4 94 32 82 61

http://www.elitechgroup.com

