

ELI.H.A *Echinococcus*

A hidatidózis serodiagnosis közvetett
haemagglutináció útján

102 tests
(Réf. 66604)

8000140-HU-2025-07

Kizárólag *in vitro* diagnózishoz, 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 oldatos reakció elvégzését teszi lehetővé.

2 - BEVEZETÉS

A hidatidózis vagy echinococcosis egy parazita betegség amely a köztigazda, például az ember *Echinococcus* típusú galandfereg 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 hytatid leggyakrabban (50-70%-ban) a májban jelenik meg, majd ezt követően a tüdőben (az esetek 25-40%-ában).
Az *Echinococcus granulosus* hidatidózisát lassú kialakulás és lappangó természet jellemzi. Kevés tünetet mutat, és a biológiai diagnózis lényegében immunológiai diagnózis, antitestkutatás révén.

3 - ELV

ELI.H.A *Echinococcus* az indirekt hemagglutináció elvére épül.
Az érzékenyebb tett vörösvértestek *Echinococcus granulosus* antigénnel borított bárány vörösvértestekből állnak.
Az anti-*Echinococcus granulosus* szérum antitestek az érzékenyebb tett vörösvértestek agglutinációját idézik elő, ami egy vörös / gesztenye színű fátolyszöngyegként jelenik meg a csészén. Specifikus antitestek hiányában ezek a vörösvértestek karika formájú üledékként jelennek meg a csésze alján. A nem szenzitizált 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 szenzitizált vörösvértest	1
R2 : 1 mL üveg nem szenzitizált 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 cseppszámoló	2

5 - ALKALMAZÁSRA VONATKOZÓ ÖVINTÉZKEDÉSEK

- A készlet reagenseit 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 reagensek nátrium-azidot tartalmaznak (koncentráció < 0.1%). A reagensekben található nátrium-azid reakcióba léphet a csövekben lévő nehézfémekkel, robbanásveszélyes vegyületeket képezve. Ezért nem ajánlott a reagenseket a lefolyóba önteni, és be kell tartani a hatályos hulladékkezelési ajánlásokat és előírásokat.
- Ne használja fel a reagenseket a lejárati idejükön túl.
- Ne használjon különböző szállítmányokból származó reagenseket.
- Ne használjon használat előtt sérült vagy nem megfelelően tárolt reagenseket.
- Várjon meg amíg a szérum és a reagensek egymásúba kerülnek szobahőmérsékleten.
- Használat előtt rázzuk fel alaposan az **R1** és **R2** reagenseket.
- 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 ÖSSZEGYÜJTÉSE 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 lejárati 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 reagenseket szobahőmérsékleten.

9.1 - A minta előkészítése

Hígítsuk a tesztaszérumot 1/40 arányban:

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

9.2 - A teszt elvégzése mikrolemezen

- Egy többszoros mikropipettával 50 µL **BUF** reagenset adagolunk a mikrotiterlemez 8 mélyedésébe.
- Mikropipettával 50 µL hígított szérumot adagolunk az ^{első} mélyedésbe. Keverjük össze a **BUF** reagenssel és lehetőleg mikrohígítóanyagot ("tulipánt") használva vigyünk át 50 µL-t az első mélyedésből a másodikba, ^a másodikból ^a harmadikba, és így ^{tovább} a ^{hátról} 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** reagenseket.
 - 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 : Tesztorozatonként 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.
- Gyűjtse össze a felülúszót; a szérumot ekkor 1/4 arányban van hígítva.
- Hígítsuk fel a felülúszót 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.

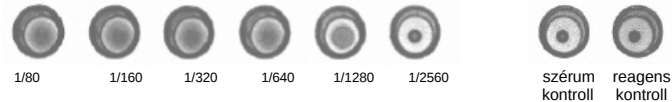
10 - LEOLVASÁS

Negatív reakció : Nincs hemagglutináció.
Viszonylag nagy karika látható a mélyedés alján.

Pozitív reakció : Van hemagglutináció.

Vörös/gesztenyeszínű fátolfüggöny jelenik meg a mélyedésen; 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 immuno-elektroforézist.
- Titer = 1/160 : Kétséges reakció.
Meg kell ismételni a tesztet 2-3 héttel később, és társítani kell egy elektroszinerézist vagy egy immuno-elektroforézist.
- Titer ≥ 1/320 : Fejlődési hidatidózis szempontjából jelentős reakció.

12 - BELSŐ MINŐSÉGI ELLENŐRZÉS

A **CONTROL+** és **CONTROL-** reagenseket analizálandó szérumként kell kezelni. A **CONTROL+** reagens titerének egyenlőnek kell lennie az üveg címkéjén jelölt titerrel ± hígítással. A **CONTROL-** reagensben nem lehet hemagglutináció. 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 hemagglutinációs határérték titerét.
- A szérumkontrollnak negatív reakciót kell adnia (gyűrű). Ezen kontroll hemagglutinációja 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 szenzitizált vörösvérsejtekből áll. Biztosítja a reakció szenzitivitását és specititását.
221 humán szérum vizsgálata 93,0% -os érzékenységet mutatott (függetlenül a ciszták elhelyezkedésétől) és 94,9% -os specititást. Az IFI-vel és az ELISA tesztel végzett összehasonlítások figyelemre méltó komplementaritást mutattak e különböző reakciók (2) tekintetében.

15 - HULLADÉKÁRTALMATLANÍTÁS

A hulladékat a felhasználási országban az ilyen típusú reagensekre vonatkozó hatályos higiéniai jogszabályoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.
A **BUF** reagens véletlen kiöntése esetén tisztítsa meg a munkafelületet nedvszívó papírral és öblítse le vízzel. Ha kiönti a szérumot vagy egy másik reagenst, takarítsa le fehéritővel és nedvszívó papírral.

16 - BIBLIOGRÁFIA

- A. CAPRON, L. YARZABAL, A. VERNES, J. FRUIT - Le diagnostic immunologique de l'échinococcose humaine – *Path. - Biol.*, 1970, Vol. 18, n° 7-8, 357-368.
- 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.
- P. WATTRE, M. CAPRON, A. BEKHTI, A. CAPRON - Diagnostic immunologique de l'Hydatidose - *La nouvelle presse médicale*, 1980, 9, n°5, 305-309.
- 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

http://www.elitechgroup.com

