

ELI.HA *Echinococcus*

Hidatidozes netiešās hemaglutinācijas serodiagnostika 102 testi (Ref. 66604)

8000140-LV-2012-01

Tikai *in vitro* diagnostikai, paredzēts tikai profesionālai lietošanai
Testi ir paredzēti tikai vienreizējai lietošanai.



1 - PIELIETOJUMS

ELI.HA *Echinococcus* ļauj kvalitatīvi noteikt *Echinococcus granulosus* antivielu serumā, izmantojot netiešu hemaglutināciju.
Katrs komplekts ļauj veikt 102 testus vai 17 reakciju pārbaudes sešos šķidrumos.

2. IEVADS

Hidatidoze jeb ehinokokoze ir parazitāru slimība, ko izraisa *Echinococcus* gastrodis ģints kāpurī (hidatīdi). *Echinococcus granulosus* dzīves ciklam ir nepieciešams gan galīgais, gan pārnēsājošais saimnieks. Parasti galīgais saimnieks ir suns, bet pārnēsātājs ir aita.
- Hidatīdi visbiežāk izplatās aknās (50 līdz 70%) un pēc tam plaušās (25 līdz 40%). Hidatītu infekcija *E. granulosus*-a raksturo lēna un mēnīga slimības attīstība. Infekcija relatīvi norit bez simptomiem, bet bioloģiskā diagnoze galvenokārt balstās uz antivielu noteikšanu.

3 - PRINCIPS

ELI.HA *Echinococcus* ir balstīts uz netiešās hemaglutinācijas principu. Sensibilizēti sarkanie asinsķermenīši sastāv no aitas sarkanajiem asinsķermenīšiem, kas pārklāti ar antigēnu *Echinococcus granulosus*-a. Anti-*Echinococcus granulosus* antivielu klātbūtnē serumā izraisa sensibilizētu sarkano asinsķermenīšu aglutināciju, kā rezultātā testēšanas lauku kļāj duļķaini sarkanbrūni nosēdumi. Ja specifiskas antivielas nepastāv, sarkanie asinsķermenīši lauka apakšā veido gredzenveida atlikumu.
Nesensibilizēti sarkanie asinsķermenīši nodrošina reakcijas specifiku, kas ļauj novērst jebkādu dabisko aitas antiaglutinīnu ietekmi (Forsmana heteroantivielas, infekcijas mononukleozes antivielas utt.).
Reakcija tiek pārbaudīta uz U-mikroplates.
Apstrāde ir vienkārša un ātra, un rezultāti ir iegūstami 2 stundu laikā.

4 - REAGENTI UN MATERIĀLI

Apraksts	Daudzums
R1 : pudelīte ar 2,2 ml sensibilizētu sarkano asinsķermenīšu	1
R2 : pudelīte ar 1 ml nesensibilizētu sarkano asinsķermenīšu	1
BUF : pudelīte ar 55 ml fosfāta buferšķīduma, pH 7,2	1
R3 : pudelīte ar 2 ml adsorbenta	1
CONTROL + : pudelīte ar 0,2 ml tīrēta pozitīvās kontroles reaģenta	1
CONTROL - : pudelīte ar 0,2 ml negatīvās kontroles reaģenta	1
MICRO-PLATE : mikroplāksne ar U pamatnes laukiem	2
DROPPER : īpašs pilinātājs	2

5 - PIESARDZĪBAS PASĀKUMI

- Reaģenti ir paredzēti lietošanai tikai *in vitro* diagnostikā, un ar tiem atļauts rīkoties tikai pilnvarotam personālam.
- Testi ir paredzēti tikai vienreizējai lietošanai.
- Visi reaģenti, izņemot **BUF** reaģentus, satur dzīvnieku izcelsmes izejvielas, un ar tām jārikojas, ievērojot piesardzību.
- Paraugi ir potenciāli infekciozi. Ar tām jārikojas, ievērojot parastos piesardzības pasākumus, ievērojot higiēnas noteikumus un lietošanas valstī spēkā esošos noteikumus.
- Reaģenti **CONTROL** satur nātrija azīdu (<0,1%).
- Nelietojiet reaģentus, kuru derīguma termiņš ir beidzies.
- Nelietojiet reaģentus ar atšķirīgu sērijas numuru.
- Pirms lietošanas, nogaidiet, kamēr serums un reaģenti sasniedz istabas temperatūru.
- Pirms lietošanas uzmanīgi sakratiet reaģentus **R1** un **R2**.
- Dozējot reaģentus **R1** un **R2**, pārļiecinieties, ka pilinātājs atrodas pilnībā vertikāli. Pārbaudiet, vai pilienos nav gaisa burbuļu, lai nodrošinātu pastāvīgu dozēšanas tilpumu.

6 - PARAGU VĀKŠANA UN APSTRĀDE

Izmantojiet svaigu serumu vai serumu, kas uzglabāts -20 °C temperatūrā un kuram nav hemolīzes, duļķainības vai piesārņojuma pazīmju.
Izvaieties no atkārtotas sasaldēšanas un atsaldēšanas.
Neizņemiet serumu.

7 - STABILĪTE, UZGLABĀŠANA UN REAGENTU SAGATAVOŠANA

Reaģenti ir gatavi lietošanai.

Visi reaģenti, kas uzglabāti to oriģinālajā iepakojumā 2-8 °C temperatūrā, ir stabili līdz derīguma termiņam, kas norādīts uz to iepakojuma. Nesasaldēt!

8 -NEPIECIEŠAMIE MATERIĀLI, KAS NEIETILPST KOMPLEKTĀ

- Automātiska pipete ar dozēšanas tilpumu, kas pielāgots mērāmajam tilpumam.
- Konteineri piesārņotajiem atkritumiem.
- Centrifūgas ierīce.
- Hemolīzes testu mēģenes.

9 - LIETOŠANAS NORĀDĪJUMI

Pirms lietošanas, nogaidiet, kamēr reaģenti sasniedz istabas temperatūru.

9.1 - Paraugu sagatavošana

- Testējamo serumu atšķaidiet attiecībā 1:40:
 - 50 µL seruma;
 - 1,95 ml **BUF** reaģenta.

9.2 - Testa veikšana uz mikroplates

- Izmantojot mikrokanālu pipeti, ievietojiet 50 µL katra **BUF** reaģenta astoņos mikroplašu laukos.
- Izmantojot mikrokanālu pipeti, 1. laukā ievietojiet 50 µL seruma. Sajauciet serumu ar **BUF** reaģentu un veiciet sērijveida atšķaidīšanu, vēlamas, izmantojot mikroatšķaidītāju un pārnesot 50 µL no 1. lauka uz 2. lauku, tad 50 µL no 2. lauka uz 3. lauku un tā tālāk, līdz procesu noslēdzat ar 6. lauku. Tad no 6. lauka izņemiet 50 µL, no tiem atbrīvojoties. Tādā veidā iegūstami atšķaidījumi attiecībās no 1:80 līdz 1:2560.
- 6. laukam jāpievieno 50 µL atšķaidīta seruma. Sajauciet serumu ar **BUF** reaģentu un pēc tam izņemiet no tā 50 µL, no tiem atbrīvojoties. Šī šķīdums (1:80) ir kontroles serums, kura uzdevums ir atklāt aitas dabisko anti-aglutinīnu, kas var būt noteiktos seruma paraugos.

Pirms lietošanas uzmanīgi sakratiet reaģentus **R1** un **R2**.

- Pievienojiet vienu pilienu reaģenta **R1** pirmajiem sešiem laukiem.
- Pievienojiet vienu pilienu reaģenta **R2** 7. laukam (seruma kontrolei).
- Pievienojiet vienu pilienu reaģenta **R1** 8. laukam (reaģenta kontrole), kura uzdevums ir kontrolēt reaģenta **BUF** un **R1** derīgumu.

Piezīme: katrā testa sērijā veiciet tikai vienu reaģenta kontroli.

- Ļoti uzmanīgi sakratiet lauka saturu:

- vai nu dariet to manuāli, sāniski uzsitot ar mikroplāksnes malu pa līdzenu galda virsmu;
- vai ievietojiet mikroplāksni vibrācijas iekārtā (piemēram, uz 10 sekundēm ar 1300 apgr./min). Neizmantojiet orbitālo vibrācijas ierīci.

- Sargājiet plāksni no turpmākām vibrācijām.

- Plāksnes rezultātu iespējams nosīt pēc divām stundām.

9.3 - Dabisko aitas anti-aglutinīnu adsorbēšana seruma kontroles aglutinācijas gadījumā

- Rūpīgi sakratiet reaģentu **R3**.
- Ievietojiet un iemaisiet to testa mēģenē:
 - 0,1 ml seruma;
 - 0,3 ml reaģenta **R3**.
- Inkubējiet to istabas temperatūrā 60 minūtes.
- Ievietojiet to centrifūgas ierīcē uz 15 minūtēm ar ātrumu 2000 apgr./min.
- Savāciet supernatantu; serums tagad ir atšķaidīts attiecībā 1:4.
- Atšķaidiet supernatantu ar **BUF** reaģentu attiecībā 1:10, lai iegūtu atšķaidītu, adsorbētu materiālu (1:40).
- Veiciet darbības, kas aprakstītas sadaļā "Mikroplāksnes testa veikšana", bet atšķaidīto materiālu aizstājiet ar atšķaidītu adsorbētu materiālu.

10 - NOLASĪŠANA

Negatīva reakcija: hemaglutinācijas neesamība.

Vairāk vai mazāk liela gredzena klātbūtnē lauka pamatnē.

Pozitīva reakcija: hemaglutinācijas klātbūtnē.

Duļķainu, sarkanbrūnu nosēdumu klātbūtnē, kas aptver pamatni; reizēm novērojama smalka riņķa līnijas robeža.

rezultāts

Piemērs: pozitīvs serums šķīduma attiecībā 1:1280



11 - REZULTĀTU INTERPRETĒŠANA

Titrs <1: 160: Reakcija, kas nav nozīmīga. Iespējams, ka hidatidozes nav. Atkārtojiet testu pēc divām līdz trīs nedēļām un veiciet arī elektrosinērēzes vai imūnelektroforēzes testu.

Titrs = 1: 160: Aizdomīga reakcija. Atkārtojiet testu pēc divām līdz trīs nedēļām un veiciet arī elektrosinērēzes vai imūnelektroforēzes testu.

Titri ≥ 1: 320: Nozīmīga reakcija, kas apstiprina progresējošu hidatidozi.

12 - IEKŠĒJĀ KVALITĀTES KONTROLE

Reaģenti **CONTROL +** un **CONTROL -** uzskatāmi par testa serumiem. Reaģenta titram **CONTROL +** jābūt tādam pašam kā titram, kas nodrūkts uz pudeles etiķetēm +/- viena atšķaidīšanas pakāpe. Koda **CONTROL -** reaģentā nedrīkst būt hemaglutinācijas. Ja pastāv hemaglutinācija, tests nav derīgs.

13 - KLŪDU CĒLONI UN TESTU IEROBEŽOJUMI

- Neatbilstoša seruma uzglabāšana.
- Neatbilstoša reaģentu uzglabāšana pēc pirmās atvēršanas.
- Tiek izmantoti tikai tie pilinātāji, kas iekļauti komplektā.
- Reaģentiem **R1** un **R2** nedrīkst izmantot vienu un to pašu pilinātāju.
- Pozitīvas reakcijas gadījumā pirmajos sešos laukos veiciet turpmāku sērijveida atšķaidīšanu, lai noteiktu hemaglutinācijas titra robežvērtību.
- Seruma kontrolei jāuzrāda negatīva reakcija (gredzens). Šīs kontroles hemaglutinācijas gadījumā tests būs jāatkārto, jo dabiskie aitu antiaglutinīni tiek izņemti no seruma ar adsorbēšanu.
- Reaģenta kontrolei jāuzrāda negatīva reakcija (gredzens). Hemaglutinācijas gadījumā šai kontrolei **ELI.HA Echinococcus** nav izmantojams.
- Daži serumi ar augstu antivielu koncentrāciju var izraisīt zonas parādību (duļķainības izzušanu) sākotnējās atšķaidījumos, kas mazinās vēlākos atšķaidījumos.
- Reaģenta kvalitāte ļauj reakciju veikt vakarā un testu nolasīt nākamajā rītā ar nosacījumu, ka mikroplāksne pilnībā netiek pārvietota, kā arī ir pasargāta no jebkādiem vibrāciju avotiem.
- Visos gadījumos pirms galīgās diagnozes noteikšanas ir pilnībā jāņem vērā klīniskie, epidemioloģiskie un bioloģiskie dati.

14 - IZPILDĪJUMS

ELI.HA Echinococcus sastāv no antigēnu sensibilizētiem sarkanajiem asinsķermenīšiem *Echinococcus granulosus*, kas nodrošina netiešās hemaglutinācijas reakcijas specifiku un jutīgumu.

Pētījums, kas tika veikts ar 221 cilvēka seruma paraugiem, tika noskaidrots, ka tests uzrādīja 93,0% jutīgumu (neatkarīgi no hidatīdu cistu atrašanās vietas) un 94,9% specifiskumu. Salfīdzinot ar IFA un ELISA testiem, tika uzrādīta ievērojama komplementaritātes pakāpe starp šīm atšķirīgajām reakcijām.

15 - ATBRĪVOŠANĀS NO ATKRITUMIEM

No atkritumiem jāatbrīvojas saskaņā ar sanitārajiem noteikumiem un noteikumiem, kas piemērojami šāda veida izstrādājumiem valstī, kurā tie tiek izmantoti.
BUF reaģenta nopļūdu gadījumā nofiltrēt darba virsmu ar absorbējošu salveti un noskalojiet to ar ūdeni. Ja serums vai citi reaģenti izplūst uz darba virsmas, nofiltrēt virsmu ar balinātāju un absorbējošu salveti.

16 - LITERĀTŪRAS ATSAUCES

1. A. CAPRON, L. YARZABAL, A. VERNES, J. FRUIT - The diagnostic immunology of human echinococcosis - *Path. - Biol.*, 1970, Sēj. 18, Nr. 7-8, 357-368.
2. P. AMBROISE-THOMAS, P.-T. DESGEORGES, M. BAYARD, A. GROS - Indirect haemagglutination in sero-diagnoses of hydatidosis. Comparison with indirect immunofluorescence and ELISA technique - *Lyon Medical*, 1979, 241, 755-759.
3. P. WATTRE, M. CAPRON, A. BEKHTI, A. CAPRON - Diagnostic immunologique de l'Hydatidose - *The new medical press*, 1980, 9, Nr. 5, 305-309.
4. P. PESSON, N. LEGER, G. MADULO-LEBLOND - Diagnostic immunology in parasitology and mycology - *Le Pharmacien Biologiste*, Volume XIII, Nr. 123, 417 / 55-60.

Iepriekšējā versijā veiktās izmaiņas ir iezīmētas pelēkā krāsā.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau
83870 SIGNES
FRANCE

☎ 33 (0) 4 94 88 55 00
Fakss: 33 (0) 4 94 32 82 61
http://www.elitechgroup.com

