# ELI.HA *Echinococcus*

## Hidatidozes netiešās hemaglutinācijas serodiagnostika

**102 testi**

(Ref. 66604)

**8000140-LV-2025-07**

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 serumu, izmantojot netiešu hemaglutināciju.
Katrs komplekts ļauj veikt 102 testus vai 17 reakciju pārbaudes sešos šķīdumos.

**2. IEVADS**

Hidatidoze jeb ehinokokoze ir parazītu slimība, ko izraisa E*chinococcus* gastrodis ģints kāpuri (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 infekciju *E. granulosus*-a raksturo lēna un mānīga slimības attīstība. Infekcija relatīvi norit bez simptomiem, bet bioloģiskā diagnoze galvenokārt balstās uz antivielu noteikšanu.

**3 - PRINCIPS**

**ELI.HA *Echinococcus*** ir balstīts uz netiešas hemaglutinācijas principu. Sensibilizēti sarkanie asinsķermenīši sastāv no aitas sarkanajiem asinsķermenīšiem, kas pārklāti ar antigēnu *Echinococcus granulosus*-a. Anti-*Echinococcus granulosus* antivielu klātbūtne serumā izraisa sensibilizētu sarkano asinsķermenīšu aglutināciju, kā rezultātā testēšanas lauku klāj 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, infekciozas mononukleozes antivielas utt.).
Reakcija tiek pārbaudīta uz U-mikroplates.
Apstrāde ir vienkārša un ātra, un rezultāti ir iegūstami 2 stundu laikā.

**4 - REAĢENTI 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 titrēta 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 jārīkojas, ievērojot piesardzību.
- Paraugi ir potenciāli infekciozi. Ar tām jārīkojas, ievērojot parastos piesardzības pasākumus, ievērojot higiēnas noteikumus un lietošanas valstī spēkā esošos noteikumus.
- Reaģenti satur nātrija azīdu (koncentrācija < 0.1%). Reaģentos esošais nātrija azīds var reaģēt ar smagajiem metāliem caurulēs, veidojot sprādzienbīstamus savienojumus. Tāpēc nav ieteicams reaģentus izmest izlietnē un ievērot spēkā esošos atkritumu apsaimniekošanas ieteikumus un noteikumus.
- Nelietojiet reaģentus, kuru derīguma termiņš ir beidzies.
- Nelietojiet reaģentus ar atšķirīgu sērijas numuru.
- Neizmantojiet reaģentus, kas pirms lietošanas ir bojāti vai nepareizi uzglabāti.
- Pirms lietošanas, nogaidiet, kamēr serums un reaģenti sasniedz istabas temperatūru.
- Pirms lietošanas uzmanīgi sakratiet reaģentus **R1** un **R2**.
- Dozējot reaģentus **R1** un **R2**, pārliecinieties, ka pilinātājs atrodas pilnībā vertikāli. Pārbaudiet, vai pilienos nav gaisa burbuļu, lai nodrošinātu pastāvīgu dozēšanas tilpumu.

**6 - PARAUGU VĀKŠANA UN APSTRĀDE**

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

**7 - STABILITĀTE, UZGLABĀŠANA UN REAĢENTU 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 - Parauga 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, vēlams, 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.

- 7. 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-aglutininīnu, 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 kontrole).
  - 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). Neizmantot orbitālo vibrācijas ierīci.

- Sargājiet plāksni no turpmākām vibrācijām.

- Plāksnes rezultātu iespējams nolasīt pēc divām stundām.

**9.3 - Dabisko aitas anti-aglutinīnu adsorbcija 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 klātbūtne lauka pamatnē.

**Pozitīva reakcija: hemaglutinācijas klātbūtne.**
Duļķainu, sarkanbrūnu nosēdumu klātbūtne, kas aptver pamatni; reizēm novērojama smalka riņķa līnijas robeža.

Piemērs: pozitīvs serums šķīduma attiecībā 1:1280

1/80. 1/160. 1/320. 1/640. 1/1280. 1/2560 Seruma kontrole Seruma kontrole

**11 - REZULTĀTU INTERPRETĒŠANA**

| | |
|---|---|
| **Titrs <1: 160:** | **Reakcija, kas nav nozīmīga.**<br>Iespējams, ka hidatidozes nav.<br>Atkārtojiet testu pēc divām līdz trīs nedēļām un veiciet arī elektrosinerēzes vai imūnelektroforēzes testu. |
| **Titrs = 1: 160:** | **Aizdomīga reakcija.**<br>Atkārtojiet testu pēc divām līdz trīs nedēļām un veiciet arī elektrosinerēzes 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 nodrukāts uz pudeles etiķetēm +/- viena atšķaidīšanas pakāpe. Koda **CONTROL -** reaģentā nedrīkst būt hemaglutinācijas. Ja pastāv hemaglutinācija, tests nav derīgs.

**13 - KLŪDU CĒLOŅI 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 adsorbciju.
- 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) sākotnējos 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 hemagulācijas reakcijas specifiku un jutīgumu. Pētījumos, kas tika veikti ar 221 cilvēka seruma paraugiem, tika noskaidrots, ka tests uzrādīja 93,0% jutīgumu (neatkarīgi no hidatīdu cistu atrašanās vietas) un 94,9% specifiskumu. Salīdzinot ar IFA un ELISA testiem, tika uzrādīta ievērojama komplementaritātes pakāpe starp šīm atšķirīgajām reakcijām (2).

**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 noplūžu gadījumā notīriet darba virsmu ar absorbējošu salveti un noskalojiet to ar ūdeni.
Ja serums vai citi reaģenti izplūst uz darba virsmas, notīriet virsmu ar balinātāju un absorbējošu salveti.

**16 - LITERATŪRAS 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-diagnostics 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
Allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
☎: 33 (0) 4 94 88 55 00
http://www.elitechgroup.com