

Hidatidozes serodiagnostika ar netiešo hemaglutināciju

102 testi
(Ref. 66604)

Tikai *in vitro* diagnostikas lietošanai, tikai profesionālai lietošanai.



ELI.H.A *Echinococcus* ļauj kvantitatīvi noteikt *anti-Echinococcus granulosus* seruma antivielas, izmantojot netiešo hemaglutināciju. Mērķa populācijā ietilpst visi, kam ir aizdomas par hidatidozi. Katrs komplekts ļauj veikt 102 testus vai 17 reakcijas ar 6 atšaidījumiem.

Hidatidoze jeb cistiska ehinokokoze ir parazitāra slimība, ko izraisa *Echinococcus* ģints cestodes kāpurī (hidatīdi). *Echinococcus granulosus* dzīves ciklam nepieciešami gan galīgi, gan starpposma saimnieki. Parasti galīgais saimnieks ir suns, bet starpposma saimnieks ir aitas un retos gadījumos cilvēki. Hidatīdas visbiežāk atrodamas aknās (50–70 %) un plaušās (25–40 %). *E. granulosus* hidatidozes infekcijai raksturīga lēna un viltīga slimības attīstība. Infekcija ir salīdzinoši bez simptomiem, un bioloģiskā diagnoze galvenokārt balstās uz antivielu noteikšanu.

ELI.H.A *Echinococcus* balstās uz netiešo hemaglutinācijas principu.

Sensibilizētās sarkanās asins šūnas sastāv no aitū sarkanajām asins šūnām, kas pārkārtas ar *Echinococcus granulosus* antigēnu. Aitū-*Echinococcus granulosus* serumā antivieta klātbūtnē izraisa sensibilizētu sarkano asins šūnu aglutināciju, ka rezultātā uz šķidruma virsmas veidojas duļķains sarkans/briūns nogulsnešums. Ja specifiskas antivieta nav, sarkanās asins šūnas veido gredzenveida nogulsnešumu šķidruma apakšā. Nesensibilizētās sarkanās asins šūnas nodrošina reakcijas specifiskumu, kas ļauj novērst jebkādu dabisko pret aitū aglutinātinu (Forssman heteroantivieta, infekciozā mononukleozē antivieta...) ietekmi.

Reakcija tiek veikta U-mikroplātē.

Apkalpošana ir vienkārsa un ātra, rezultāti ir pieejami 2 stundu laikā.

Apraksts	Daudzums
R1: 2,2 ml flakons ar sensibilizētiem sarkano asins šūnu	1
R2: 2,2 ml flakons ar nesensibilizētām sarkanajām asins šūnām	1
BUF: 55 ml fosfāta buferšķiduma pH 7,2 flakons	1
R3: 2 ml adsorbenta flakons	1
CONTROL + : 0,2 ml titrētas pozitīvās kontroles flakons	1
KONTROLE -: 0,2 ml negatīvās kontroles flakons	1
MIKROPLAKSNĒ: mikroplāksne ar U veida dibenu	2
PILINĀTĀJS : īpašs pilinātājs	2

- Reaktīvi ir paredzēti tikai *in vitro* diagnostikai, un ar tiem drīkst rīkoties tikai pilnvarots personāls.
- Reaktīvi un mikroplates var izmantot tik daudz reizi, cik norādīts uz iepakojuma. Katra mikroplates bedrīte ir paredzēta vienreizējai lietošanai.
- Visi reaģenti, izņemot BUF reaģentu, satur dzīvnieku izcelsmes izejvielas, un ar tiem jāpietas ar piesardzību.
- Pacientu paraugi ir potenciāli infekciozi. Ar tiem jāpietas ar piesardzību, ievērojot higiēnas noteikumus un spēkā esošos noteikumus šāda veida produktiem lietošanas valstī.
- Reaktīvi satur nātrija azīdu (koncentrācija < 0,1 %). Reaktīvos esošais nātrija azīds var reaģēt ar caurulvados esošajiem smagajiem metāliem, veidojot sprādzienbīstamus savienojumus. Tāpēc ieteicams reaktīvus neizlietot izlētnē un ievērot spēkā esošos ieteikumus un noteikumus par atkritumu apglabāšanu.
- Nelietojiet reaģentus pēc derīguma termiņa beigām.
- Nelietojiet reaģentus no dažādiem partijām numurim.

- Nelietojiet bojātus vai nepareizi uzglabātus reaģentus pirms lietošanas
- Pirms lietošanas ļaujiet serumam un reaģentiem sasniegt istabas temperatūru.

- Izdalot R1 un R2 reaģentus, pārliecinieties, ka pilnātnājs ir pilnīgi vertikāls. Pārbaudiet, vai piliens nav gaisa burbulu, lai nodrošinātu nemainīgu izdalīto tilpumu.

Izmantojiet svaigu serumu, kas iegūts pēc asins savākšanas sausās mēģenēs (uzglabājot līdz 7 dienām 2–8 °C temperatūrā vai -20 °C temperatūrā, ja uzglabāšana ilgst ilgāk par 7 dienām) un kurā nav hemolīzes, duļķainības, dzeltenā krāsas vai piesārņojuma. Katrai laboratorijai ieteicams pārbaudīt izmantoto savākšanas mēģenu savietojamību.

Izvaieties no atkārtotas sasaldēšanas un atkausēšanas. Neizdaliet serumu.

Reaktīvi ir gatavi lietošanai.

Reaktīvi, kas uzglabāti 2–8 °C temperatūrā oriģinālajā iepakojumā un pēc atvēršanas, ir stabili līdz uz iepakojuma norādītajam derīguma termiņam. Tos nedrīkst sasaldēt.

- Automātiskā pipete(-es) ar pipetēšanas tilpumu, kas pielāgots mērāmajam tilpumam;
- Piesāmojo atkritumu konteineri;
- Centrifūga;
- Hemolīzes mēģenes.

Pirms lietošanas ļaujiet reaģentiem sasniegt istabas temperatūru.

Veiciet testējamā seruma atšķaidīšanu 1:40 proporcijā:

- 50 µL seruma;
- 1,95 ml BUF reagenta.

- Izmantojot daudzkanālu mikropipeti, pievienojiet 50 µL BUF reaģenta 8 mikroplates bedrītēm.
- Izmantojot mikropipeti, pievienojiet 50 µL atšķaidīta seruma 1. bedrītei.

Sajauc serumu ar BUF reaģentu un veic sērījveida atšķaidīšanu, vēlamās izmantojot mikrodilutoru, pārņemot 50 µL no 1. akas uz 2. aku, tad 50 µL no 2. uz 3. aku un tā tālāk, līdz sasniedz 6. aku. Pēc tam 50 µL no 6. akas izlej.

Tādā veidā tiek iegūti atšķaidījumi no 1:80 līdz 1:2560.

- Pievienojiet 50 µL atšķaidīta seruma 7. bedrītei.
Sajauc serumu ar BUF reaģentu un izlej 50 µL.
Šis atšķaidījums (1:80) ir seruma kontrole, kuras uzdevums ir noteikt dabiskos pret aitu aglutinīnus, kas var būt atrodami noteiktos seruma paraugos.

- Rūpīgi sakratiet R1 un R2 reaģentus.
 - Pievienojiet 1 pilieni R1 reaģenta pirmajām 6 bedrītēm.
 - Pievienojiet 1 pilieni R2 reaģenta 7. bedrītei (seruma kontrole).
 - Pievienojiet 1 pilieni R1 reaģenta 8. bedrītei (reaģenta kontrole), kuras uzdevums ir kontrolēt BUF un R1 reaģenta derīgumu.

Piezīme: Veiciet tikai vienu reaģenta kontroli katrai testu sērijai.

- Ļoti uzmanīgi sakratiet aku saturu:
 - vai nu manuāli, pieskaroties mikroplates sāniem, kas ir novietota uz galda;
 - vai izmantojot vibrējošu plāksņu kratītāju mikrotrā plāksnēm (piemēram, 1300 apgr./min. 10 sekundes). Nelietojiet orbitālo kratītāju.

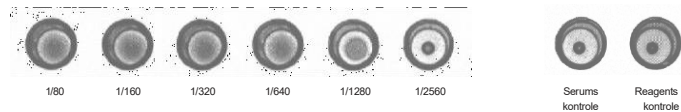
- Pēc tam plāksni atstājat nemainīgā stāvoklī, pasargātu no vibrācijas, istabas temperatūrā no 15 līdz 30 °C.
- Reakciju nolasiēt pēc 2 stundām. Rezultātus var interpretēt pēc vismaz 1,5 stundām un ne vēlāk kā pēc 24 stundām.

- R3 reaģentu uzmanīgi sakratiet.
- Mēģenē pievienojiet un sajauciet:
 - 0,1 ml seruma;
 - 0,3 ml R3 reaģenta.
- Inkubējiet istabas temperatūrā 60 minūtes.
- Centrifugējiet 2000 apgr./min 15 minūtes.
- Savāc supernatantu; serums tagad ir atšaidīts 1:4.
- Veiciet supernatanta atšaidīšanu 1:10 attiecībā pret BUF reaģentu, lai iegūtu adsorbētu krājumu atšaidījumam (1:40).
- Izpildiet solus, kas aprakstīti sadaļā „Testa veikšana uz mikroplātes”, bet aizstājiet koncentrāta atšaidījumu ar adsorbēto koncentrāta atšaidījumu.

Negatīva reakcija: Hemaglutinācijas nav.
Vairāk vai mazāk liela gredzena klātbūtne akas dībenā.

Hemaglutinācijas klātbūtne.
Dūmakains sarkans/brūns nogulsneņums, kas pārklāj aknu, dažkārt ir redzama smalka perifērā apmale.

Piemērs: Pozitīvs serums atšķaidījumā 1/1280.



Titrs < 1/160: Nenozīmīga reakcija.
Iespējams, nav hidatidozes.
Atkārtojiet testu pēc 2–3 nedēļām un kombinējiet ar imūnblotingu.

Titrs = 1/160: **Aizdomīga reakcija.**
Atkārtojiet testu pēc 2–3 nedēļām un apvienojiet ar imūnblotingu.

Titrs $\geq 1/320$: levērojama reakcija, kas liecina par progresējošu hidatidozi.

Reaktīvi CONTROL+ un CONTROL- jāapstrādā kā testa serumi. Reaktīva CONTROL+ titram jābūt tādām pašām kā uz flakona etiķetes norādītajam titram ± viena atšķaidījuma pakāpē. CONTROL- nedrīkst būt hemaglutinācija. Ja ir hemaglutinācija, tests nav derīgs.

13 – KLŪDU CĒLONI UN TESTA IEROBEŽĶĶUMI

- Nepareiza seruma uzglabāšana.
- Reaktīvu nepareiza uzglabāšana pēc atvēršanas.
- Izmantojiet tikai komplektā iekļautos pilinātājus.
- Izmantojiet tikai komplektā iekļautās plāksnes ar U veida dibenu.
- Nekādā gadījumā neapmainiet pilinātājus starp R1 un R2 reaģentiem.
- Ja pirmajos 6 laucīnos reakcija ir pozitīva, veiciet turpmāku sērijveida atšķaidīšanu, lai noteiktu hemaglutinācijas tītra robežu.
- Seruma kontrolei jābūt negatīvai (gredzens). Ja šī kontrole ir hemaglutinējoša, tests jāatkārto pēc dabisko pret aidu aglutinīnu izdalīšanas no seruma ar adsorbācijas palīdzību.
- Reagenta kontrolei jābūt negatīvai reakcijai (gredzens). Ja šī kontrole izraisa hemaglutināciju, ELI.H.A *Echinococcus* komplektu nevar izmantot.
- Daži serumi, kuru antiviēlu koncentrācija ir ļoti augsta, sākotnējās atšķaidījumos var izraisīt zonas parādību (ar apduļķojuma izušanu), kas pazūd turpmākajos atšķaidījumos.
- Reaktīvu kvalitāte ļauj reakciju veikt vakarā un nākamajā rītā nolasīt testa rezultātus, ja mikropiāksne netiek nekādi pārvietota un ir aizsargāta no jebkādiem vibrāciju avotiem.
- Nelietojiet atkārtoti aku, kas jau ir izmantota testa veikšanai.
- Francijas medicīniskās bioloģijas procedūru nomenklatūrā ir noteikts, ka seroloģiskajā skrīningā uz ehinokokozi *anti-Echinococcus* antiviēlu meklēšana jāveic, izmantojot divas dažādas metodes. Tas ir nepieciešams, lai varētu izslēgt jebkādas nezināmus traucējumus. Tādēļ šīs seroloģijas vispārējā interpretācija jābalsta uz dažādu izmantoto metožu rezultātiem. Visos gadījumos pirms galīgās diagnozes noteikšanas ir nepieciešams pilnībā ņemt vērā klīniskos, epidemioloģiskos un bioloģiskos datus.
- Nepārvietojot vai nevirbējot mikroplāti, testu var veikt vakarā un nākamajā rītā (t. i., pēc maksimālā reakcijas laika 24 stundas) nolasīt rezultātus.

14 – DARBĪBAS RĀDĪTĀJI

14.1 – ANALĪTISKĀS IESPĒJAS

14.1.1 – Atkārtojamība

Pozitīvā serumā ierīcei ir 100 % atkārtojamība ar pieņemamu pielaidi vienai akas atšķirībai. Negatīvā serumā ierīcei ir 100 % atkārtojamība bez pielāides pozitīvam rezultātam. Seruma kontroles un reaģenta kontroles akas ir 100 % atkārtojamas.

14.1.2 – Reprodukivitāte

Pozitīvā serumā ierīcei ir 100 % reproducējamība ar pieņemamu pielaidi vienai labīnai. Negatīvā serumā ierīcei ir 100 % reproducējamība bez pielāides pozitīvam rezultātam. Seruma kontroles un reaģenta kontroles akas ir 100 % reproducējamas.

14.1.3 – Interferences

Sakarā ar augsto ģenētisko homoloģiju starp divām *Echinococcus* sugām: *E. multilocularis* un *E. granulosus*, ir nepieciešami sekundāri testi, lai izslēgtu krustenisko reaktivitāti (9). Krustreakcijas ir novērotas ar pozitīviem paraugiem pret *Fasciola* antiviēlām vai pret *S. mansoni* antiviēlām (2). Krustreakcijas novērotas ar paraugiem no pacientiem ar toksoplazmozi, HIV, EBV, asperģilozes, **filiāriāzes** un klonorhiazēm (1,3).

Potenciālā mijiedarbība ar hemoglobīnu, lipīdiem un bilirubīnu tika pētīta saskaņā ar CLSI EP07 ieteikumiem (4,5,6,7,8). Līdz šādām maksimālajām koncentrācijām netika konstatēta nozīmīga mijiedarbība:

Pārbaudītās vielas	Maksimālās koncentrācijas
Bilirubīns	800 mg/l
Lipīdi	15 g/l
Hemoglobīns	10 g/l

Papildzināta literatūras pārskatīšana ļāva mums izslēgt iespējamās zāļu mijiedarbības, vienlaikus pēc iespējas samazinot risku, kas saistīts ar jebkādiem vēl neidentificētiem traucējumiem.

14.2 – KLINISKĀ EFEKTIVITĀTE

ELI.H.A *Echinococcus* sastāv no sarkano asins šūnu, kas sensibilizētas ar *Echinococcus granulosus* antigēnu. Tas nodrošina reakcijas jutību un specifiskumu. Pētījumā ar 221 cilvēka serumu tika pierādīta 93,0 % jutība (neatkarīgi no cistas atrašanās vietas) un 94,9 % specifiskums. Salīdzinājums ar IFI un ELISA testiem parādīja ievērojamu šo dažādo reakciju savstarpējo papildināmību (1).

ELI.H.A *Echinococcus* komplekta klīniskā efektivitāte tika novērtēta, izvērtējot zinātnisko literatūru, pamatojoties uz piecām publikācijām laikposmā no 2009. gada līdz 2023. gadam (2,10,11,12,13). Tika iegūti šādi rezultāti:

1. tabula: Klīniskā efektivitāte ar sliekšni 1/160

Pētījums	Pētījums Nr. 4 [12]
Publicēšanas gads	2023
Populācija	23 seruma paraugi no pacientiem ar aizdomām par cistisko ehinokokozi
Salīdzinošā metode (atskaistes standarts)	Histopatoloģiskā izmeklēšana
Jutība 1/160	94 % ^a
Specifiskums 1/160	100 % ^a
PPV ^a 1/160	100 % ^a

2. un 3. tabula: Klīniskā efektivitāte ar sliekšni 1/320

Pētījums	Pētījums Nr. 1 [10]			Pētījums Nr. 2 [11]	Pētījums Nr. 3 [2]		
Publicēšanas gads	2009			2024	2010		
Populācija	19 seruma paraugi no pacientiem ar plaušu hidatīdo cistām	40 serums no pacientiem ar parazītozi un citām plaušu slimībām	20 serums no veselēm subjektiem	74 seruma paraugi no pacientiem ar iespējamu cistisko ehinokokozi (51 sievietē un 23 vīriešī vecumā no 3 līdz 86 gadiem)	30 serums no pacientiem ar cistisko ehinokokozi un bez citām parazitoloģiskām infekcijām	30 seruma paraugi no pacientiem ar citām parazitārām infekcijām, <i>S. mansoni</i> (n=6), <i>Fasciola</i> (n=6), <i>H. nana</i> (n=6), <i>E. histolytica</i> (n=6) un <i>Giardia lamblia</i> (n=6).	10 seruma paraugi no pacientiem bez parazitārām infekcijām
Salīdzinošā metode (atskaistes standarts)	Darības rezultāti	NA	NA	Klīnisko un radioloģisko ziņojumu rezultāti	Klīniskā analīze un operācija	NA	NA
Jutība 1/320	73,6			70,8	86,7		
Specifiskums 1/320	98,3			96,2	95		
PPV ^a 1/320	93,3			97,1	92,9		
NPV ^a 1/320	92,1			64,1	90,5		

Pētījums	Pētījums Nr. 4 [12]	Pētījums Nr. 5 [13]		
Publicēšanas gads	2023	2016		
Populācija	23 serums no pacientiem ar aizdomām par cistisko ehinokokoze	18 serums no bērniem ar cistisko ehinokokozi	27 serums no pieaugušajiem ar cistisko ehinokokozi	20 seruma paraugi no veselēm indivīdiem
Salīdzinošā metode (atskaistes standarts)	Histopatoloģiskā izmeklēšana	Klīniskā izmeklēšana un medicīniskā attēlveidošana		
Jutība 1/320	82,4 % ^a	88,9 % ^a		
Specifiskums 1/320	100 % ^a	100 % ^a		
PPV ^a 1/320	100 % ^a	100 % ^a		
NPV ^a 1/320	66,7 % ^a	80 % ^a		

^a: PPV: pozitīvā prognostiskā vērtība
^a: NPV: negatīvā prognostiskā vērtība
(^a : ELITech Microbio aprēķinātā vērtība

Zinātniskajā literatūrā klīniskā jutība un specifiskums nozīmīguma sliekšnim 1/160 ir attiecīgi 94 % un 100 %. Nozīmīguma sliekšnim 1/320 klīniskā jutība un specifiskums ir attiecīgi no 73,6 % līdz 88,9 % un no 95 % līdz 100 %. Nozīmīguma sliekšnim 1/160 PPV ir 100 % un NPV ir 85,7 %. Ja nozīmīguma sliekšnis ir 1/320, PPV ir no 92,86 % līdz 100 % un NPV ir no 66,67 % līdz 92,1 %.

15 – ATKRITUMU LIQUIDĀCĶJA

Atkritumi jāutilizē saskaņā ar higiēnas noteikumiem un spēkā esošajiem noteikumiem šāda veida produktiem lietošanas valstī. Ja BUF reaģents ir izlīdis, darba vietu notīriet ar absorbējošu papīru un noskalojiet ar ūdeni. Ja uz darba vietas ir izlīdis cita reaģenta serums, to notīriet ar balinātāju un absorbējošu papīru.

16 – BIBLIOGRĀFIJA

1. P. AMBROISE-THOMAS, P.-T. DESGEORGES, M. BAYARD, A. GROS - Netiešā hemaglutinācija hidatidozes seroloģiskajā diagnostikā. Salīdzinājums ar netiešo imunofluorescences un ELISA metodi – Lyon Médical, 1979, 241, 755-759.
2. El-Shazly AM, Saad RM, Belal US, Sakr T, Zakae HA. ELISA un IHAT novērtējums seroloģiskajā diagnostikā pierādītos cilvēku hidatidozes gadījumos. J Egypt Soc Parasitol. 2010;40(2):531-538.
3. Van Doorn HR, Hofwegen H, Koelewijn R, et al. Uzticama seroloģiskā diagnostika importētai cistiskai ehinokokozei ar komerciālu netiešo hemaglutinācijas testu. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007;57(4):409-412.
4. Lo SY, Saifee NH, Mason BO, Greene DN. Trūkumu aizpildīšana ar nestandarta ķermeņa šķidrumiem. Pract Lab Med. 2016. gada 16. marts; 5:24-31. doi: 10.1016/j.plabm.2016.03.003. PMID: 28856201; PMCID: PMC5574517.
5. CLSI. Interferences testēšana klīniskajā ķīmijā. 3. izdevums. CLSI vadlīnijas EP07. Wayne, Pa: Klīnisko un laboratorijas standartu institūts; 2018. 23-24. lpp.
6. CLSI. Papildu tabulas traucējumu testēšanai klīniskajā ķīmijā. 1. izdevums. CLSI papildinājums EP37. Wayne, Pa: Klīnisko un laboratorijas standartu institūts; 2018. 94.–96. lpp.
7. Jaundzimušo hiperbilirubinēmija – Pediatrīja – MSD rokasgrāmatas profesionālā izdevuma š Jaundzimušo hiperbilirubinēmijas etioloģija, 5. lpp. (msdmanuals.com)
8. Bilirubīns – Bioloģiskie standarti – IFSI kursi – IDE kartotēkas \$Dzette p3 (fiches-ide.fr)
9. Schwarz NG, Loderstaedt U, Hahn A, et al. Mikrobioloģiskā laboratorijas diagnostika novārtā atstātajām zoonozēm (NZDs). Acta Trop. 2017;165:40-65. doi:10.1016/j.actatropica.2015.09.003
10. Eris FN, Akisu C, Aksoy U. Divu ELISA un divu netiešo hemaglutinācijas testu novērtējums plaušu hidatidozes serodiagnostikai. Korean J Parasitol. 2009;47(4):427-429. doi:10.3347/kjp.2009.47.4.427
11. Erganis, S., Sarzhanov, F., Al, F.D. *et al.* Cistiskās ehinokokoze seroloģiskās diagnostikas metožu salīdzinājums. *Acta Parasit.* **69**, 1122–1131 (2024). https://doi.org/10.1007/s11686-024-00840-z
12. Yulek O, Genç Bahçe Y, Demir H. Netiešā hemaglutinācijas testa nozīme cistiskās ehinokokoze diagnozēšanā: seroloģiskā un histopatoloģiskā korelācija. Cerrahpaşa Med J. 2023;47(2):129-134.
13. El-Ghareeb AS, Waked NM, Al-Feky HM. KLİNISKIE UN PARAZITOLOĶISKIE PĒTĶJUMI PAR PLŪSMU UN AKNU HIDATĶDU CISTĀM HOSPITALIZĒTIEM BĒRNIEM UN PIEAUGUŠĶJĒM. J Egypt Soc Parasitol. 2016;46(1):9-18. doi:10.12816/0026145

Par jebkuru nopietnu incidentu, kas saistīts ar ierīci, jāziņo ražotājam un tās dalībvalsts kompetentajai iestādei, kurā lietotājs ir reģistrēts.

Izmaiņas salīdzinājumā ar iepriekšējo versiju ir izcelti 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

