

ELI.H.A *Echinococcus*

Серодијагностика на хидатидоза со индиректна хемаглутинација

102 тестови.

(бр. 66604)

8000140-МК-2012-01

Само за *ин vitro* дијагностичка употреба, само за професионална употреба.
Тестовите се наменети само за единечна употреба.



1 - ЦЕЛ

ELI.H.A *Echinococcus* совозможува квантитативно одредување на серумските антитела против *Ехинококус гранулозус* со индиректна хемаглутинација. Капацитетот на комплетот е 102 тестови или 17 реакции од 6 разредувања.

2 - ВОВЕД

Хидатидоза или ехинококоза е паразитско заболување поврзано со развој во средниот домаќин, вклучувајќи го и човечкото суштество, на ларвата (хидатидата) на цестодата од родот *Ехинокок*. Циклусот *Ехинококус гранулозус* го вклучува кучето како краен домаќин и овци или, поретко, човек како среден домаќин. Локализацијата на хидатидата на ниво на црн дроб е најчеста (50-70 %), а потоа следи белодробна локализација (25-40 %). Хидатидоза од *Ехинококус гранулозус* се карактеризира со бавна еволуција и подмолно темпо. Ниска симптоматска и биолошка дијагноза е суштински имунолошки преглед на антитела.

3 - ПРИНЦИП

ELI.H.A *Echinococcus* се заснова на принципот на индиректна хемаглутинација. Чувствителните црвени крвни клетки се состојат од црвени крвни клетки на овци обложени со антиген на *Ехинококус гранулозус*. Присуството на анти-*Ехинококус гранулозус* серумските антитела доведува до аглутинација на сензибилизирани црвени крвни клетки, со присутни симптоми, како што е црвено-кафеастиот слој што ја покрива внатрешноста на садот. Во отсуство на специфични антитела, овие црвени крвни клетки се сместуваат на дното на садот во форма на круг. Несензибилизирани црвени крвни клетки ја обезбедуваат специфичноста на реакцијата и овозможуваат да се елиминира мешањето предизвикано од природен аглутинин против овците (хетероанти антитела на Форсман, инфективни антитела на мононуклеоза,...). Реакцијата се изведува на плоча со микротитар во форма на буквата У. Манупулацијата е брза и лесна. Резултатите се достапни за 2 часа.

4 - РЕАГЕНСИ И ОПРЕМА

Опис	Количина
R1 : вијала со 2,2 ml сензибилизирани црвени крвни клетки	1
R2 : вијала со 1 ml несензибилизирани црвени крвни клетки	1
BUF : вијала со 55 ml фосфатен буфер pH 7,2	1
R3 : вијала со 2 ml адсорбент	1
CONTROL + : вијала со 0,2 ml титрирана позитивна контрола	1
CONTROL - : вијала со 0,2 ml негативна контрола	1
MICROPLATE : Плоча со микротитар во форма на буквата У	2
DROPPER : специјална алатка за капење	2

5 - ПРИНЦИПИ НА БЕЗБЕДНО РАКУВАЊЕ

- Реагенсите се само за *ин vitro* дијагностичка употреба и мора да се ракува со нив од овластен персонал.
- Тестовите се наменети само за единечна употреба.
- Сите реагенси освен **BUF** содржат супстанции од животинско потекло и при ракувањето мора да се следат принципите на безбедна манипулација.
- Примероците се потенцијално заразни. При ракување со нив, мора да се почитуваат принципите на безбедна манипулација, хигиенските правила и прописи што се во сила во земјата на употреба.
- **CONTROL-** вијали содржат натриум азид (концентрација <0,1 %).
- Не користете ги реагенсите по датумот на истекување.
- Не користете реагенси од различни партии.
- Почекајте серумот и реагенсите да се балансираат на собна температура.
- Протресете ги реагенсите **R1** и **R2** добро пред употреба.
- При дозирање реагенси **R1** и **R2**, проверете дали пилетата е поставена вертикално.

Проверете дали нема меури од воздухот во капките за да бидат константни количините што се испорачуваат.

6 - СОБИРАЊЕ И ОБРАБОТКА НА ПРИМЕРОЦИ

Користете свеж или конзервиран серум на -20 ° C без заматеност или контаминација.

Избегнувајте повторно замрзнување и одмрзнување.
Не распаѓајте го серумот.

7 - ЗАШТИТА И ПОДГОТОВКА НА РЕАГЕНСИТЕ

Реагенсите се подготвени за употреба.

Сите реагенси складирани на 2-8 ° C се стабилни до датумот на истекување на кутијата. Да не се замрзнуваат.

8 - ПОТРЕБНА ОПРЕМА (НЕ Е ВКЛУЧЕНА ВО ПАКЕТОТ)

- Автоматска пипета (а) со волумен на пипета што одговара на измерената количина;
- Контејнери за контаминиран отпад;
- Центрифуга
- цевки за хемолиза.

9 - ПОСТАПКА

Оставете реагенсите да се прилагодат на собната температура пред употреба.

9.1 - Подготовка на примерок

Тест серумот се разредува на 1/40:

- 50 μ L серум;
- 1,95 ml од **BUF** реагенс.

9.2 - Спроведување на тестот на плоча на микротитер

- Користете повеќеканална микропипета, дистрибуирајте 50 μ L од **BUF** реагенс во 8 садови од плочата на микротитер.

- Користете микропипета, дистрибуирајте 50 μ L разреден серум во првиот сад.

Се меша со **BUF** реагенс и трансфер, по можност со употреба на микро-растворувач ("лале"), 50 μ L од 1^{от} сад до 2^{от} сад, од 2^{от} до 3^{от} сад, и така натаму до 6^{от} сад и извадете 50 μ L од садот 6.

На овој начин се добиваат разредувања од 1/80 до 1/2560.

- Исфрлете 50 μ L разреден серум во седмиот сад. Се меша со **BUF** реагенс и отфрлете 50 μ L.

Ова разредување (1/80) е серумска контрола за откривање на природни аглутинини против овци кои можат да бидат присутни во некои серуми.

- Протресете реагенси **R1** и **R2** добро.

- Ставете 1 капка реагенс **R1** во првите шест садови.
- Ставете 1 капка реагенс **R2** во 7-от сад (серумска контрола).
- Ставете 1 капка реагенс **R1** во 8-от сад (контрола на реагенс) за да се потврди валидноста на **BUF** реагенс и реагенс **R1**.

Забелешка: Извршете само една проверка на реагенс на пробно испитување.

- Хомогенизирајте ја содржината на садовите многу внимателно:
 - или со рака, потчкнувајќи од страна на микротитерната плоча поставена исправена;
 - или со употреба на шејкер за микро плочи (на пример 1300 вртежи во минута за 10 секунди). Не користете орбитален шејкер.
- Секогаш заштитивајте ја плочата од вибрации.

- прочитајте ја реакцијата 2 часа подоцна.

9.3 - Адсорпција на природни аглутинини против овци во случај на аглутинација на контролата во серумот

- Протресете го реагенсот **R3** правилно.
- Дистрибуирајте во цевка и измешајте:
 - 0,1 ml серум;
 - 0,3 ml реагенс **R3**.
- Инкубирајте 60 минути на собна температура.
- Центрифугирајте на 2000 вртежи во минута за 15 мин.
- Супернатантот се собира; серумот потоа се разредува за 1/4.
- Супернатантот се разредува 1/10 во **BUF** реагенс за да се постигне адсорпција на супериорно разредување (1/40).
- Повторете го протоколот "Изведете микро плоча" со замена на горното разредување со адсорбираното разредување.

10 - ЧИТАЊЕ

Негативна реакција: Отсуство на хемаглутинација.

Присуство на повеќе или помалку широк прстен на дното на чашата.

Позитивна реакција: Присуство на хемаглутинација.

Присуство на црвено-кафеав слој што ја покрива внатрешност на садот; повремено е присутна тенка лента.

Пример: Серумски позитивен за 1/1280



Проверете серумски реактивен

11 - ТОЛКУВАЊЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Титар <1/160:

Реакцијата не е значајна.
Веројатно отсуство на хидатидоза.
Повторете го тестот за 2 до 3 недели подоцна и исто така комбинирајте с со електросинтеза или имуноелектрофореза.

Титар = 1/160:

Сомнителна реакција.
Повторете го тестот 2 до 3 недели подоцна и комбинирајте со електросинтеза или имуноелектрофореза.

Титар \geq 1/320:

Силен одговор со кој се потврдува прогресивната хидатидоза.

12 - ВНАТРЕШНА КОНТРОЛА ЗА КВАЛИТЕТ

CONTROL + и **CONTROL -** реагенсите треба да се третираат како серуми што треба да се анализираат. Титарот на **CONTROL +** реагенсот мора да одговара на титарот означен на етикетата на вијалата со \pm едно разредување. **CONTROL -** реагенсот мора да биде ослободен од хемаглутинација. Ако не е така, тестот не е валиден.

13 - ПРИЧИНИ НА ГРЕШКИ И ГРАНИЦИ ЗА ИСПИТУВАЊЕ

- Неправилно складирање на серумот.
- Неправилно складирање на реагенси по отворањето.
- Користете ги само пилетите што се дадени како дел од комплетот.
- Не менувајте пипети помеѓу реагенсите **R1** и **R2**.
- Во случај на позитивна реакција во првите шест садови, продолжете со разредување за да го одредите граничниот титар на хемаглутинација.
- Серумската контрола треба да обезбеди негативна реакција (круг). Во случај на хемаглутинација на оваа контрола, потребно е да се повтори тестот по отстранување на природните аглутинини против овците од серумот со адсорпција.
- Реактивната контрола мора да обезбеди негативна реакција (круг). Во случај на хемаглутинација на оваа контрола, **ELI.H.A Ехинокок** реагенсот не може да се користи.
- Некои серуми со многу високи концентрации на антитела можат да предизвикаат ефект на зона (со повлекување на слојот) при првото разредување, кој исчезнува при следните разредувања.
- Квалитетот на реагенсите дозволува реакцијата да се одвива навечер и да се прочита следното утро, под услов плочата на микротитерот да не биде поместена и да биде заштитена од вибрации.
- Во сите случаи, и пред да се постави дефинитивна дијагноза, толкувањето на тестот мора да се изврши со интеграција на сите клинички, епидемиолошки и биолошки податоци и резултатите од другите тестови.

14 - РЕЗУЛТАТИ

ELI.H.A *Echinococcus* се состои од црвени крвни клетки сензибилизирани на *Ехинокок гранулозус*. Обезбедува чувствителност и специфичност на реакцијата. Студија на 221 човечки серуми покажа чувствителност од 93,0 % (без оглед на локацијата на цистата) и специфичност од 94,9 %. Споредбата со IFI и ELISA покажа извонредна комплементарност на овие различни реакции (2).

15 - ОТСТРАНУВАЊЕ НА ОТПАД

Отпадот мора да се отстранува во согласност со хигиенските правила и прописи што се применуваат на овој вид на производ во земјата на употреба.
Во случај на случајно истурање на **BUF** реагенс, исчистете ја работната површина со абсорбирачка хартија и исплакнете со вода. Ако се истури серум или друг реагенс, исчистете со средства за дезинфекција и апсорбирачка хартија.

16 - ВРСКИ

1. 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.
2. P. AMBROISE-THOMAS, P.-T. DESGEORGES, M. BAYARD, A. GROS - L'hémagglutination indirecte dans le séro-diagnostic de l'hydatisose. 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'hydatisose - *La nouvelle presse médicale*, 1980, 9, n°5, 305-309.
4. P. PESSION, N. LEGER, G. MADULO-LEBLOND - Diagnostic immunologique en parasitologie et en mycologie - *Le Pharmacien Biologiste*, Tome XIII, n°123, 417/55-60.

Промените во споредба со претходната верзија се обележани со сива боја.



ELITech MICROBIO
Parc d'activités du Plateau
allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
☎: 33 (0) 4 94 88 55 00
Факс: 33 (0) 4 94 32 82 61
http://www.elitechgroup.com