

ELI.N.A *Echinococcus*

Серодијагноза на хидатидоза со индиректна хемаглутинација

102 тестови
(Ref. 66604)

8000140-МК-2026-01_V2

Само за *in vitro* дијагностичка употреба, само за професионална употреба.



1 – АИМ

ELI.N.A *Echinococcus* овозможува квантитативно определување на серумски антитела против *Echinococcus granulosus* преку индиректна хемаглутинација. Целната популација вклучува секој што со сомнева дека има хидатидоза. Секој комплет овозможува спроведување на 102 теста или 17 реакции со 6 разредувања.

2 – ВОВЕД

Хидатидоза или цистична ехинококоза е паразитска болест предизвикана од ларвите (хидатски цисти) на цестода од родот *Echinococcus*. Животниот циклус на *Echinococcus granulosus* бара и конечен и меѓудрумен домаќин. Општо земено, кучето е конечниот домаќин, а овците и во ретки случаи луѓето се меѓудрумените домаќини. Хидатидите најчесто се наоѓаат во црниот дроб (50 до 70%) и потоа во белите дробови (25 до 40%). Инфекцијата со *E. granulosus* хидатидоза се карактеризира со бавно и подмолно напредување на болеста. Инфекцијата е релативно асимптоматска, а биолошката дијагноза главно се темели на откривање антитела.

3 – ПРИНЦИП

ELI.N.A *Echinococcus* се заснова на принципот на индиректна хемаглутинација. Сензибилизираните црвени крвни зрнца се состојат од овчарски црвени крвни зрнца покриени со антиген од *Echinococcus granulosus*. Присуството на серумски антитела против *Echinococcus granulosus* предизвикува аглутинација на сензибилизираните црвени крвни зрнца, што резултира со заматено црвено/кафеаво таложје кое го обложува дното на колодката. Во отсуство на специфични антитела, црвените крвни зрнца формираат прстенесто таложје на дното на колодката. Несензибилизираните црвени крвни зрнца ја обезбедуваат специфичноста на реакцијата, овозможувајќи елиминација на какви било мешања од природните анти-овци аглутинини (Форсман хетероантитела, антитела против инфективна мононуклеоза...). Реакцијата се изведува во U-микроплатеат. Ракувањето е едноставно и брзо, со резултати во рок од 2 часа.

4 – РЕАГЕНСИ И МАТЕРИЈАЛ

Опис	Количина
R1 : вијала од 2,2 mL сензибилизирани црвени крвни зрнца	1
R2 : вијала од 2,2 mL несензибилизирани црвени крвни зрнца	1
БУФ: вијала од 55 mL фосфатен буфер рН 7,2	1
R3 : вијала од 2 mL адсорбент	1
КОНТРОЛА + : вијала од 0,2 mL титрирана позитивна контрола	1
КОНТРОЛА - : вијала од 0,2 mL негативна контрола	1
МИКРОПЛАТА : микроплата со U-дно	2
КАПАЛИЦА : специјална капалица	2

5 – ПРЕДОХТРЕНИЈА

- Реагенсите се наменети само за *in vitro* дијагностичка употреба и мора да се ракуваат од овластен персонал.
- Реагенсите и микроплатчето може да се користат за најмногу тестови наведени на кутијата. Секоја јама на микроплатчето е само за еднократна употреба.
- Сите реагенси, освен реагенсот BUF, содржат сировини од животинско потекло и мора да се ракуваат со претпазливост.
- Узорците од пациентите се потенцијално заразни. Со нив треба да се ракува внимателно, почитувајќи ги правилата за хигиена и важечките прописи за овој тип на производ во земјата на употреба.
- Реагенсите содржат натриев азид (концентрација < 0,1%). Натриев азид што содржи во реагенсите може да реагира со тешките метали во цевките и да формира експлозивни соединенија. Затоа се препорачува реагенсите да не се исфрлаат во одводот и да се почитуваат препораките и прописите за отстранување на отпадот што е на сила.
- Не користете реагенси по истекот на рокот на траење.
- Не користете реагенси од различни сервиски броеви.

- Не користете оштетени или неправилно складирани реагенси пред употреба
- Пред употреба, оставете го серумот и реагенсите да дојдат на собна температура.

- Внимателно протресете ги реагенсите R1 и R2 пред употреба.
- При дозирање на реагенсите R1 и R2, осигурајте се дека пипетата е совршено вертикална. Проверете дали нема воздушни меури во капките за да се обезбеди константна големина на дозите.

6 – СОБИРАЊЕ И ТРЕТИРАЊЕ НА УЗОРКОТ

Користете свеж серум добиен по собирањето на крв во суви епрувети (до 7 дена чување на 2-8°C или на -20°C за чување подолго од 7 дена), кој не покажува хемоллиза, заматеност, иктерус или контаминација. Секоја лабораторија се советува да ја провери компатибилноста на користените епрувети за собирање. Избегнувајте повторно замрзнување и одмрзнување. Не го декомплентирајте серумот.

7 – СКЛАДИРАЊЕ И ПОДГОТОВКА НА РЕАГЕНСИ

Реагенсите се подготвени за употреба. Реагенсите се чуваат на 2-8°C во оригинално пакување и по отворањето се стабилни до датумот на истекување наведени на кутијата. Не смее да се замрзнуваат.

8 – МАТЕРИЈАЛ ПОТРЕБЕН, НО НЕИЗДОБЕН

- Автоматска пипета со волумен на пипетирање прилагоден на волуменот што ќе се мери;
- Контејнери за отпаден материјал;
- Центрифуга;
- Епрувети за хемоллиза.

9 – МЕТОД

Оставете ги реагенсите да достигнат собна температура пред употреба.

9.1 – Подготовка на примерокот

Направете разредување 1:40 на серумот што ќе се тестира:

- 50 µL серум;
- 1,95 mL реагенс BUF.

9.2 – Изведување на тестот на микроплатче

- Со помош на мултиканална микропипета, додајте 50 µL од реагенсот BUF во 8 дупчиња на микроплаток.
- Со микропипета додајте 50 µL разреден серум во првата јама.
Измешајте го серумот со реагенсот BUF и направете серијско разредување, по можност со микродигитер, со пренесување на 50 µL од првата дупка во втората, потоа 50 µL од втората во третата и така натаму до шестата дупка. 50 µL од шестата дупка потоа се отфрлаат.
На овој начин се добиваат разредувања од 1:80 до 1:2560.

- Додајте 50 µL разреден серум во 7-мата јама.
Измешајте го серумот со реагенсот BUF и потоа отфрлете 50 µL.
Ова разредување (1:80) е контрола на серумот, чија улога е да ги открие природните анти-овци аглутинини што може да бидат присутни во одредени примероци серум.

- Внимателно протресете ги реагенсите R1 и R2.
 - Додајте 1 капка реагенс R1 во првите 6 јамки.
 - Додајте 1 капка реагенс R2 во 7-мата јама (контрола на серум).
 - Додајте 1 капка реагенс R1 во 8-мата дупка (контрола на реагенс), чија улога е да ја провери валидноста на BUF и R1 реагенсот.

Забелешка: Изведувајте само една контрола на реагенс за секоја серија тестови.

- Многу внимателно протресете ја содржината на колонките:
 - или рачно, со лесно талкање по страната на микроплатшата која е поставена рамно на работната површина;
 - или со користење на вибрирачка плоча за микротите плочи (на пример на 1300 вртежи во минута во текот на 10 секунди). Не користете орбитален шејкер.

- Потоа оставете ја плочата недопрена, заштитена од вибрации, на собна температура помеѓу 15 и 30 °C.
- Прочитајте ја реакцијата по 2 часа. Резултатите може да се толкуваат по најмалку 1,5 часа и до најмногу 24 часа.

9.3 – Адсорпција на природните анти-овчо аглутинини во случај на аглутинација на серумската контрола

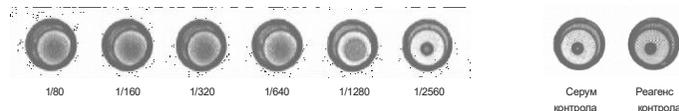
- Внимателно протресете го реагенсот R3.
- Во епрувета додајте и размешајте:
 - 0,1 mL серум;
 - 0,3 mL реагенс R3.
- Инкубирајте на собна температура 60 минути.
- Центрифугирајте на 2000 врт/мин 15 минути.
- Собери го супернатантот; серумот сега е разреден во сооднос 1:4.
- Направете разредување на супернатантот во сооднос 1:10 во реагенсот BUF за да добиете адсорбирано основно разредување (1:40).
- Следете ги чекорите опишани во "Реализација на тестот на микроплатче", но заменете ја дилуцијата на стандардот со адсорбираната дилуција на стандардот.

10 – ЧИТАЊЕ

Негативна реакција: Отсуство на хемаглутинација.
Присуство на повеќе или помалку голем прстен на дното на јамата.

Позитивна реакција: Присуство на хемаглутинација.
Присуство на заматен црвен/кафеав талог што го обложува дното на колодката, понекогаш е присутен тенок периферен раб

Пример: Позитивен серум при разредување 1/1280



11 – ТУМАЧЕЊЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Титар < 1/160: Незначајна реакција.
Веројатно отсуство на хидатидоза.
Повторете го тестот по 2 до 3 недели и комбинирајте го со имуноблот анализа.

Титар = 1/160: Сомнителна реакција.
Повторете го тестот по 2 до 3 недели и комбинирајте го со имуноблот-анализа.

Титар ≥ 1/320: Значајна реакција во прилог на прогресивна

хидатидоза. 12 – ВНУТРЕШНА КОНТРОЛА НА КВАЛИТЕТ

Реагенсите CONTROL+ и CONTROL- треба да се третираат како тест серуми. Титарот на реагенсот CONTROL+ мора да биде ист како титарот отпечатен на етикетата на вијалата ± една разреденост. Не смее да има хемаглутинација на CONTROL-. Ако е присутна хемаглутинација, тестот не е валиден.

13 – ПРИЧИНИ ЗА ГРЕШКИ И ОГРАНИЧУВАЊА НА ТЕСТОТ

- Несоодветно чување на серумот.
- Лошо чување на реагенсите по отворањето.
- Користете ги само пипетите од комплетот
- Користете ги само плочите од комплетот со дупки со U-обликувано дно.
- Не ги менувајте пипетерите помеѓу реагенсите R1 и R2.
- Во случај на позитивна реакција во првите 6 дупчиња, извршете понатамошно сериско разредување за да го одредите титричниот лимит на хемаглутинација.
- Контролата на серум мора да даде негативна реакција (прстен). Во случај на хемаглутинација на оваа контрола, ќе биде потребно да се обнови тестот откако ќе се елиминираат природните анти-овидински аглутиници од серумот преку адсорпција.
- Контролата на реагенсот мора да даде негативна реакција (прстен). Во случај на хемаглутинација на оваа контрола, комплетот **ELI.H.A Echinococcus** не може да се користи.
- Одредени серуми чија концентрација на антитела е многу висока, можат да предизвикаат феномен на зона (со исчезнување на заматеноста) во почетните разредувања, кој исчезнува во следните разредувања.
- Квалитетот на реагенсите овозможува реакцијата да се изврши навечер, а тестот да се прочита следното утро, под услов микроплаката да не се поместува и да биде заштитена од секој извор на вибрации.
- Не користете повторно бунар што веќе бил искористен за изведување тест.
- Француската номенклатура за процедури во медицинската биологија специфицира дека за серолошко скринирање на ехинококоза, потрагата по антитела *protive Echinococcus* мора да се изврши со две различни техники. Ова е за да се елиминираат сите непознати интерферирачки фактори. Свкупната интерпретација на оваа серологија затоа мора да се заснова на резултатите од различните користени техники. Во сите случаи, неопходно е клиничките, епидемиолошките и биолошките податоци целосно да се земат предвид пред поставувањето на конечната дијагноза.
- Без поместување или вибрирање на микроплаката, тестот може да се изведе навечер и да се прочита следното утро (т.е. по максимално време на реакција од 24 часа).

14 – ПЕРФОРМАНСИ

14.1 – АНАЛИТИЧКИ ПЕРФОРМАНСИ

14.1.1 – Повторливост

При позитивен серум, уредот има 100% повторливост со прифатлива толеранција на разлика од една дупка. При негативен серум, уредот има 100% повторливост без толеранција за позитивност во резултатот. Бунарите за контрола на серум и контрола на реагенс имаат 100% повторливост.

14.1.2 – Репродуктивност

При позитивен серум, уредот има 100% репродуктивност со прифатлива толеранција од разлика од една јама. При негативен серум, уредот има 100% репродуктивност без толеранција за позитивност во резултатот. Колоци за контрола на серум и колоци за контрола на реагенс имаат 100% репродуктивност.

14.1.3 – Интерференција

Поради високата генетска хомологија помеѓу двата вида *Echinococcus*: *E. multilocularis* и *E. granulosus*, потребни се секундарни тестови за да се исклучи вкрстената реактивност (9). Набљудувани се вкрстени реакции со позитивни примероци за антитела *protive Fasciola* или антитела *protive S. mansoni* (2). Набљудувани се вкрстени реакции со примероци од пациенти со токсоплазмоза, ХИВ, ЕБВ, аспергилоза, филаријаза и клонорхијаза (1,3).

Потенцијалното мешање со хемоглобинот, липидите и бирирубинот беше проучено според препораките на CLSI EP07 (4,5,6,7,8). Не беше откриено значително мешање до следниве максимални концентрации:

Тестирани супстанции	Максимални концентрации
Билирубин	800 mg/L
Липиди	15 g/L
Хемоглобин	10 g/L

Деталниот преглед на литературата ни овозможува да ги исклучиме потенцијалните интеракции на лекови, истовремено минимизирајќи го, колку што е можно, ризикот поврзан со сè уште неидентификувани интерференти.

14.2 – КЛИНИЧКА ЕФЕКТИВНОСТ

ELI.H.A Echinococcus се состои од црвени крвни зрна сензибилизирани со антиген од *Echinococcus granulosus*. Обезбедува сензитивност и специфичност во реакцијата. Студија на 221 човечки серум покажа сензитивност од 93,0% (независно од локацијата на кистата) и специфичност од 94,9%. Споредбите со IFI и ELISA тестовите покажаа извонредна комплементарност помеѓу овие различни реакции (1).

Клиничката ефикасност на комплетот **ELI.H.A Echinococcus** беше оценета преку преглед на научна литература заснована на пет публикации од периодот помеѓу 2009 и 2023 година (2, 10, 11, 12, 13). Добиели се следниве резултати:

Табела 1: Клиничка ефикасност за праг од

1/160	Tanulmány Közzététel éve	4. tanulmány [12]
		2023
	Populáció	23 szérum tisztás echinokokkózis gyanúval kezelt betegektől
	Összehasonlító módszer (referencia standard)	Szövetani vizsgálat
	Érzékenység 1/160	94% ^a
	Specifitás 1/160	100% ^a
	PPV* 1/160	100% ^a
	NPV* 1/160	85,7% ^a

Табела 2 и 3: Клиничка ефикасност за праг од 1/320

Студија	Студија бр. 1 [10]			Студија бр. 2 [11]		Студија бр. 3 [2]		
Година на објавување	2009			2024		2010		
Население	19 серуми од пациенти со белодробни хидатидни цисти	40 серум од пациенти со паразитоза и други белодробни заболувања	20 серуми од здрави субјекти	74 серуми од пациенти со сомнеж за цистична ехинококоза (51 жена и 23 мажи на возраст од 3 до 86 години)	30 серум од пациенти со цистична ехинококоза и без друга паразитолошка инфекција	30 серуми од пациенти со други паразитози, <i>S. mansoni</i> (n=6), <i>Fasciola</i> (n=6), <i>H. nana</i> (n=6), <i>E. histolytica</i> (n=6) и <i>Giardia lamblia</i> (n=6).	10 серуми од пациенти без паразитози	
Компаративна метода (референтен стандард)	Резултати од операцијата	НП	НП	Резултати од клинички и радиолошки извештаи	Клиничка анализа и хирургија	НП	НП	
Сензитивност 1/320	73,6%			70,8%		86,7%		
Специфичност 1/320	98,3%			96,2%		95%		
PPV* 1/320	93,3%			97,1%		92,9%		
NPV* 1/320	92,1%			64,1%		90,5%		

Студија	Студија бр. 4 [12]	Студија бр. 5 [13]		
Година на објавување	2023	2016		
Население	23 серум од пациенти со сомнеж на цистична ехинококоза	18 серум од деца со цистична ехинококоза	27 серум од возрастни со цистична ехинококоза	20 серум од здрави субјекти
Компаративна метода (референтен стандард)	Хистопатолошки преглед	Клинички преглед и медицинско снимање		
Сензитивност 1/320	82,4% ^a	88,9% ^a		
Специфичност 1/320	100% ^a	100% ^a		
PPV* 1/320	100% ^a	100% ^a		
NPV* 1/320	66,7% ^a	80% ^a		

*: ППВ: Позитивна предиктивна вредност

*: НПВ: Негативна предиктивна вредност

*: Вредност пресметана од ELITech Microbio

Во научната литература, клиничката чувствителност и специфичност за праг на значајност од 1/160 се 94% и 100%, соодветно. За праг на значајност од 1/320, клиничката сензитивност и специфичност се движат од 73,6% до 88,9% и од 95% до 100%, соодветно. За праг на значајност од 1/160, PPV е 100% и NPV е 85,7%. За праг на значајност од 1/320, ППВ се движат од 92,86% до 100%, а НПВ се движат од 66,67% до 92,1%.

15 – ЕЛИМИНАЦИЈА НА ОТПАД

Отпадот треба да се отстрани во согласност со правилата за хигиена и со важечките прописи за овој вид производ во земјата на употреба. Ако реагентот BUF се истури, исчитете ја работната површина со апсорбентен хартиен материјал и исплакнете го вода. Ако на работната површина се истури серум од друг реагент, исчитете со белило и апсорбентен хартиен материјал.

16 – БИБЛИОГРАФИЈА

1. П. Амбруаз-Томас, П.-Т. Дежерж, М. Бајард, А. Грос - Индиректна хемаглутинација во серо-дијагностиката на хидатидоза. Споредба со индиректна имунофлуоресценција и ELISA техника - Lyon Medical, 1979, 241, 755-759.
2. El-Shazly AM, Saad RM, Belal US, Sakr T, Zakae HA. Евалуација на ЕЛИЗА и ИХАТ во серолошката дијагноза на докажани случаи на човечка хидатидоза. J Egypt Soc Parasitol. 2010;40(2):531-538.
3. Van Doorn HR, Hofwegen H, Koelewijn R, и др. Сигурна серодијагноза на увезена цистична ехинококоза со комерцијален тест за индиректна хемаглутинација. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007;57(4):409-412.
4. Lo SY, Saifee NH, Mason BO, Greene DN. Пополнување на празнините со нестандартни телесни течности. Pract Lab Med. 2016 март 16;5:24-31. doi: 10.1016/j.plabm.2016.03.003. PMID: 28856201; PMCID: PMC5574517.
5. CLSI. Тестирање на интерференции во клиничката хемија. 3-то изд. CLSI упатство EP07. Вејн, Пенсилванија: Институт за клинички и лабораториски стандарди; 2018. стр. 23-24
6. CLSI. Дополнителни табели за тестирање на интерференции во клиничката хемија. 1. изд. Дополнок на CLSI EP37. Вејн, Пенсилванија: Институт за клинички и лабораториски стандарди; 2018. стр. 94-96
7. Неонатална хипербилирубинемия - Педијатрија - Професионално издание на MSD Прирачник § Етиологија на неонаталната хипербилирубинемия стр. 5 (msdmanuals.com)
8. Билирубин - Биолошки норми - Курс IFSI - Фондиња IDE §Присуство на иктерус стр. 3 (fiches-ide.fr)
9. Schwarz NG, Loderstaedt U, Hahn A, и сор. Микробиолошка лабораториска дијагностика на занемарени зооноски болести (NZDs). Acta Trop. 2017;165:40-65. doi:10.1016/j.actatropica.2015.09.003
10. Eris FN, Aksu C, Aksoy U. Евалуација на два ELISA и два индиректни хемаглутинациски теста за серодијагноза на пулмонална хидатидна болест. 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. Споредба на методите во серолошката дијагноза на цистична ехинококоза. Acta Parasit. 69, 1122–1131 (2024). https://doi.org/10.1007/s11686-024-00840-z
12. Yülek Ö, Genç Bağcı Y, Demir N. Важноста на индиректниот хемаглутинациски тест во дијагнозата на цистична ехинококоза: Серолошко-хистопатолошка корелација. Cerrahpaşa Med J. 2023;47(2):129-134.
13. El-Гариб АС, Вакед НМ, Ел-Феки ХМ. КЛИНИЧКИ И ПАРАЗИТОЛОШКИ СТУДИИ ЗА ПУЛМОНАЛНИ И ХЕПАТИЧНИ ХИДАТИДНИ КИСТИ КАЈ ХОСПИТАЛИЗИРАНИ ДЕЦА И ВОЗРАСНИ. J Egypt Soc Parasitol. 2016;46(1):9-18. doi:10.12816/0026145

Секој сериозен инцидент поврзан со уредот треба да се пријави на производителот и на надлежниот орган на државата-членка во која е воспоставен корисникот.

Промените од претходната верзија се означени со сива боја.

