

ELI.H.A *Echinococcus*

Serodiagnóstico da idatidose por hemaglutinação indirecta

102 Testes

(Ref. 66604)

8000140-PT-2025-07
Apenas para diagnóstico in vitro, apenas para uso profissional.
Os testes são apenas para uso único.



1 - OBJETIVO
ELI.HA *Echinococcus* permite a determinação quantitativa de anticorpos anti-*Echinococcus granulosus* em amostras de soro por hemaglutinação indireta.
O kit permite realizar 102 testes ou 17 reações de 6 diluições.

2 - INTRODUÇÃO
Idatidose ou equinococose é uma condição parasitária que corresponde ao desenvolvimento no hospedeiro intermediário, incluindo o homem, da larva (ídlilo) de um cestode do género *Echinococcus*. O ciclo *Echinococcus granulosus* envolve o cão como hospedeiro definitivo e as ovelhas ou, mais raramente, o homem, como hospedeiro intermediário.
A localização do ídlido no fígado é a mais frequente (50 a 70%), seguida pela localização pulmonar (25 a 40%).
O *Echinococcus granulosus* é caracterizado pela lentidão da sua evolução e pelo seu ritmo insidioso. Ainda há pouco sintomático e o diagnóstico biológico é essencialmente imunológico à procura de anticorpos.

3 - PRINCÍPIO
O **ELI.H.A *Echinococcus*** baseia-se na hemaglutinação indireta.
Os eritrócitos sensibilizados são compostos por eritrócitos de ovelha revestidos com um antígeno de *Echinococcus granulosus*.
A presença de anticorpos anti-*Echinococcus granulosus* em amostras de soro é revelada por uma aglutinação de eritrócitos sensibilizados: um filme marrom-avermelhado no poço. Na ausência de anticorpos específicos, esses eritrócitos se depositam e formam um anel no fundo do poço.
Os eritrócitos não sensibilizados, garantem a especificidade da reação e permitem a eliminação de interferências devido a aglutininas naturais anti-heep (heteroanticorpos de Forssman, anticorpos de mononucleose infecciosa...).
A reação é realizada em microplaca U.
O teste é rápido e fácil. Os resultados são obtidos em 2 horas.

Descrição	Quantidade
R1 : Frasco de 2,2 mL de glóbulos vermelhos sensibilizados	1
R2 : Frasco de 1 mL de eritrócitos não sensibilizados	1
BUF : Frasco de 55 mL de solução tampão fosfato pH 7,2	1
R3 : Frasco de 2 mL de absorbente	1
CONTROLE + : frasco de 0,2 mL de controle positivo titulado	1
CONTROLE - : frasco de controle negativo de 0,2 mL	1
MICROPLACA : U-Microplacas	2
CONTA-GOTAS : Conta-gotas especial	2

5 - ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES
- Apenas para uso diagnóstico in vitro, apenas para uso profissional
- Os ensaios destinam-se apenas a utilização única.
- Todos os reagentes, exceto o reagente **BUF**, contêm material de origem animal. Consequentemente, eles devem ser manuseados como componentes perigosos.
- As amostras são potencialmente infecciosas. Eles devem ser manuseados com as precauções usuais, em conformidade com as regras e regulamentos de higiene em vigor no país de uso.
- Os reagentes contêm azida de sódio (concentração < 0.1%). A azida de sódio contida nos reagentes pode reagir com os metais pesados nos canos e formar compostos explosivos. Assim, recomenda-se não deitar os reagentes para o lavatório e seguir as recomendações e normas vigentes para a deposição de resíduos.
- Não utilize reagentes após o prazo de validade.
- Não utilize reagentes e controles de lotes diferentes.
- Não utilize reagentes danificados ou armazenados incorretamente antes da sua utilização.
- Permitir que reagentes e amostras retornem à temperatura ambiente antes do teste.
- Agite cuidadosamente os reagentes **R1** e **R2** antes de usar.
- Ao derramar os reagentes **R1** e **R2**, certifique-se de que a agulha conta-gotas esteja perfeitamente vertical. Verifique se não há bolhas de ar nas gotas para garantir volumes de entrega constantes.

6 - AMOSTRAGEM/PREPARAÇÃO E ARMAZENAMENTO DA AMOSTRA
Use soros frescos ou soros armazenados a -20°C. Não utilize soro hemolisado, turvo ou contaminado. Evite o congelamento e descongelamento repetidos.
Não descomprime o soro.

7 - MÉTODOS DE ARMAZENAMENTO
Os reagentes estão prontos para uso. Armazenar a +2°...+8°C, até o prazo de validade indicado na embalagem. Não congelar.

8 - MATERIAL NECESSÁRIO, MAS NÃO FORNECIDO
- Pipeta (s) automática (s) com volume de pipetagem adaptado (s) à quantidade a medir
- Recipiente de resíduos contaminados
- Centrifugadora
- Tubos de hemólise

9 - EXECUÇÃO DO TESTE
Antes de usar, deixe os reagentes e amostras voltarem à temperatura ambiente.

9.1 - Preparação da diluição 1/40 do estoque de soro de teste
Diluir o soro a ser testado para 1/40:
• 50 µL de soro;
• 1,95 mL de reagente **BUF**.

9.2 - Realização do teste em microplaca
- Usando uma micropipeta multicanal, despeje 50 µL de reagente **BUF** em 8 poços da microplaca.

- Usando uma micropipeta, adicione 50 µL de diluição de estoque de soro no primeiro poço.
Misture com o reagente **BUF** e transfira, preferencialmente por meio de um microdiluidor, 50 µL do primeiro poço para o segundo poço, do segundo poço para o terceiro poço e assim por diante para o sexto poço. Descarte 50 µL do sexto poço.
Assim, obtemos diluições de 1/80 a 1/2560.

- Adicionar 50 µL de diluição de reserva de soro no sétimo poço.
Misturar com o reagente **BUF** e descartar 50 µL.
Essa diluição de 1/80 é o controle sérico e é utilizada para a detecção de aglutininas naturais antivegetativas, que podem ocorrer em algumas ser.

- Agitar cuidadosamente os reagentes **R1** e **R2**.
• Distribua uma gota de reagente **R1** nos primeiros seis poços.
• Distribua uma gota de reagente **R2** no sétimo poço (controle do soro).
• Distribua uma gota do reagente **R1** no oitavo poço (controle do reagente). Sua função é verificar a validade do reagente **BUF** e do reagente **R1**.

Nota: Prepare apenas um controle de reagente por conjunto de ensaio.

- Com muita cautela, homogeneizar o conteúdo dos poços :
• Manualmente, dando golpes leves nas laterais da microplaca, colocadas planas
• Ou com um vibrador agitador para microplacas (por exemplo, 1300 rpm durante 10 segundos). Não use um agitador orbital.
- Em seguida, deixe a placa imóvel, longe das vibrações.

- Leia a reação duas horas depois.

9.3 - Absorção de aglutininas naturais anti-heep em caso de aglutinação de controle de soro

- Agitar cuidadosamente o reagente **R3**.
- Colocar num tubo e misturar :
• 0,1 mL de soro de teste ;
• 0,3 mL de reagente **R3**.
- Incubar durante 60 min à temperatura ambiente.
- Centrifugue a 2000 rpm por 15 min.
- Recolher o líquido sobrenadante ; o soro é então diluído 1/4.
- Diluir o fluido sobrenadante 1/10 com o reagente **BUF** para obter uma solução-mãe adsorvida (1/40).
- Seguir o protocolo de "Realização do teste em microplaca" substituindo a diluição estoque pela solução estoque adsorvida.

10 - LEITURA DOS RESULTADOS

Reacção negativa: **Sem hemaglutinação**
Presença de no fundo do cockpit. Um anel mais ou menos largo

Reação positiva: **Hemaglutinação**
Presença de um filme marrom-avermelhado no poço :
às vezes, a presença de um anel periférico fino

Exemplo: Soro positivo em 1/1280



11 - INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS	
Título < 1/160:	Reação não significativa. Provável ausência de equinococose. Repita o teste 2 ou 3 semanas depois e combine uma eletrossinereose ou imunoeletroforese.
Título = 1/160:	Reação enganosa. Repita o teste 2 ou 3 semanas depois e combine uma eletrossinereose ou imunoeletroforese.
Título ≥ 1/320:	Reação significativa a favor da equinococose aguda.

12 - CONTROLE INTERNO DA QUALIDADE
Cada kit inclui **CONTROLE -** e **CONTROLE +** titulado, pronto para uso e executado como amostras. Essas verificações validam o teste. O título do **CONTROLE +** deve ser de ± uma diluição em relação ao indicado no rótulo do frasco. A hemaglutinação não deve ser observada com o **CONTROLE -**. Caso contrário, o teste não é válido.

13 - CAUSAS DO ERRO E LIMITAÇÕES DO TESTE
- Armazenamento deficiente de soro.
- Armazenamento deficiente de reagentes após a abertura.
- Utilize apenas os conta-gotas fornecidos no kit.
- Não troque conta-gotas entre os reagentes **R1** e **R2**.
- Em caso de reação positiva nos primeiros seis poços, fazer diluições mais elevadas para determinar o título de hemaglutinação limite.
- A verificação do soro deve dar uma reação negativa (anel). Em caso de hemaglutinação deste controle, é necessário repetir o ensaio após a eliminação das aglutininas naturais antipeles por absorção.
- O controle do reagente deve dar uma reação negativa (anel). Em caso de hemaglutinação deste controle, o reagente **ELI.H.A *Echinococcus*** não pôde ser utilizado.
- Alguns soros, com um título de anticorpos muito alto, podem causar um fenômeno de zona (com encolhimento do filme) nas primeiras diluições, que desaparece com o aumento das diluições.
- A qualidade dos reagentes permite que a reação seja realizada à noite, com leitura na manhã seguinte, desde que a microplaca permaneça imóvel e protegida das vibrações.
- Em qualquer caso, o diagnóstico deve ser avançado usando os resultados deste teste juntamente com os outros achados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais.

14 - DESEMPENHO DO KIT
ELI.H.A *Echinococcus* é composto por eritrócitos sensibilizados por um antígeno *Echinococcus granulosus* que garante sensibilidade e especificidade para a reação.
Um estudo de 221 ser humano mostrou uma sensibilidade de 93% (dependendo da posição do cisto) e uma especificidade de 94,9%. Estudo comparativo com IFI e com teste ELISA mostrou a completude desses vários testes (2).

15 - ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS
Amostras, reagentes e materiais e produtos contaminados devem ser descartados em recipiente especial para resíduos contaminados, de acordo com as recomendações e regulamentos vigentes para este tipo de produto no país de uso.
Em caso de derramamento acidental do reagente **BUF**, limpe a superfície com toalhas de papel e água. Se o soro ou outro reagente for derramado, limpe a superfície com toalhas de papel, água e alvejante.

16 - BIBLIOGRAFIA
1. A. CAPRON, L. YARZABAL, A. VERNES, J. FRUIT - Le diagnostic immunologique de l'ecinococose humaine – *Path. - Biol.*, 1970, Vol. 18, no. 7-8, 357-368.
2. P. AMBROISE-THOMAS, P.-T. DESGEORGES, M. BAYARD, A. GROS - L'hemagglutination indirecte dans le séro-diagnostic de l'hydatidose. Comparaison avec l'imunofluorescence indirecte et la technique ELISA - *Lyon Medical*, 1979, 241, 755-759.
3. P. WATTRE, M. CAPRON, A. BEKHTI, A. CAPRON - Diagnostic immunologique de l'Hydatidose - *La nouvelle presse* (1980, 9, n°5, 305-309).
4. P. PESSON, N. LEGER, G. MADULO-LEBLOND - Diagnostic immunologique en parasitologie et en micologie - *Le Pharmacien Biologiste*, Tomo XIII, n°123, 417/55-60.

As alterações da versão anterior são destacadas em cinza.

ELITech MICROBIO
Parc d'actives du Plateau
Allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE
☎Tel: +33 (0) 4 94 88 55 00
http://www.elitechgroup.com