

# ELI.N.A *Echinococcus*

## Серодијагноза хидатидозе индиректном хемаглутинацијом

102 теста

(Ref. 66604)

8000140-SR-2026-01\_V2

Само за *ин vitro* дијагностичку употребу, само за професионалну употребу.



### 1 – ЦИЉ

ELI.N.A *Echinococcus* омогућава квантитативну одређивање серумских антитела на *антu-Echinococcus granulosus* индиректном хемаглутинацијом. Циљна популација обухвата све особе код којих постоји сумња на хидатидозу. Сваки комплет омогућава обављање 102 теста или 17 реакција са 6 разређења.

### 2 – УВОД

Гидатидоза или цистична ехинококоза је паразитска болест изазвана ларвама (хидатидним цистама) цестоде рода *Ехинококус*. Животи циклус *Ехинококус гранулозус* захтева и коначног и међубитног домаћина. Углавном је пас коначан домаћин, а овеце и, у ретким случајевима, људи су међубитни домаћини.

Хидатиди се најчешће налазе у јетри (50–70%), а затим у плућима (25–40%).

Инфекција хидатидозом узрокована *E. granulosus*-ом карактерише се спорим и прикривеним напредовањем болести. Инфекција је релативно асимптоматска, а биолошка дијагноза углавном се заснива на детекцији антитела.

### 3 – ПРИНЦИП

ELI.N.A *Ехинококус* се заснива на принципу индиректне хемаглутинације.

Сензибилисане црвене крвне ћелије састоје се од овчијих црвених крвних ћелија прекривених антигеном *Echinococcus granulosus*.

Присуство серумских антитела *против Echinococcus granulosus* доводи до аглутинације осетљивих црвених крвних зрнаца, што резултује мутним црвено-смеђим таложом који прекрива дно леја. У одсуству специфичних антитела, црвена крвна зрнаца формирају прстенасти талог на дну леја.

Несензибилисане црвене крвне ћелије обезбеђују специфичност реакције, омогућавајући елиминацију свих улплатиа природних анти-овчих аглутинина (Форсман хетероантитела, антитела на заразну мононуклеозу...).

Реакција се изводи у У-микропластини.

Рад је једноставан и брз, а резултати су доступни у року од 2 сата.

### 4 – РЕАГЕНСИЈЕ И МАТЕРИЈАЛ

Опис	Количина
R1 : флашица од 2,2 mL сензибилисаних црвених крвних зрнаца	1
R2 : флашица од 2,2 mL несензибилисаних црвених крвних зрнаца	1
БУФ: вијалка од 55 mL фосфатног пуфера рН 7,2	1
R3 : вијалка од 2 mL адсорбента	1
КОНТРОЛА + : вијалка од 0,2 mL титрисане позитивне контроле	1
КОНТРОЛА - : флашица од 0,2 mL негативне контроле	1
МИКРОПЛАДА : микроплада са U-дном	2
КАПАЛИЦА : специјална капалица	2

### 5 – МЕРЕ ОПРЕЗА

- Реагенси су намењени само за *ин vitro* дијагностичку употребу и мора их руковати овлашћено особље.

- Реагенси и микропластина могу се користити за највише број тестова наведен на кутији. Свака јама микропластине је само за једнократну употребу.

- Сви реагенси, осим реагенса BUF, садрже сировине животињског порекла и морају се руковати опрезно.

- Узорци пацијената су потенцијално заразни. Са њима се мора поступати опрезно, поштујући хигијенска правила и важеће прописе за ову врсту производа у земљи употребе.

- Реагенси садрже натријум азид (концентрација < 0,1%). Натријум азид који се налази у реагенсима може реаговати са тешким металима у цевима и формирати експлозивне једињења. Стога се препоручује да реагенси не бацају у судопер и да се придржавате важећих препорука и прописа о одлагању отпада.

- Не користите реагенсе након истека рока трајања.

- Не користите реагенсе из различитих серијских бројева.

- Не користите оштећене или неправилно складиштене реагенсе пре употребе

- Пре употребе, оставите серум и реагенсе да дођу на собну температуру.

- Пажљиво протресите реагенсе R1 и R2 пре употребе.

- При дозирању реагенса R1 и R2, уверите се да је пилетатор сасвим усправан. Проверите да ли у капљицама нема ваздушних мехурића како би се обезбедиле константне запремине дозирања.

### 6 – ПРИКУПЉАЊЕ И ТРЕТМАН УЗОРКА

Користите свеж серум добијен након прикупљања крви у сувим епруветама (до 7 дана чувања на 2–8 °C или на –20 °C за чување дуже од 7 дана), који не показује хемолизу, замућеност, иктерус или контаминацију. Свака лабораторија се саветује да провери компатибилност коришћених епрувета за прикупљање.

Избегавајте поновљено замрзавање и одмрзавање. Не декомплментујте серум.

### 7 – ЧУВАЊЕ И ПРИПРЕМА РЕАГЕНСА

Реагенси су спремни за употребу.

Реагенси се чувају на температури од 2–8 °C у оригиналном паковању и након отварања су стабилни до рока трајања наведеног на кутији. Не смеју се замрзавати.

### 8 – МАТЕРИЈАЛ ПОТРЕБАН, АЛИ НИЈЕ ОБЕЗБЕЂЕН

- Аутоматска пилета(е) са запремином прилагођеном запремини која ће бити мерена;

- Контејнери за отпад загађени;

- Центрифуга;

- Епрувете за хемолизу.

### 9 – МЕТОДА

Дозволите реагенсима да достигну собну температуру пре употребе.

#### 9.1 – Припрема узорка

Извршите разређивање серума за тестирање у односу 1:40:

- 50 µL серума;
- 1,95 mL реагенса BUF.

#### 9.2 – Извршење теста на микропластини

- Користећи мултиканалну микропилету, додајте 50 µL BUF реагенса у 8 јама микропладња.

- Микропилетом додајте 50 µL разређеног серума у прву јаму.

Измешајте серум са BUF реагентом и извршите серијско разређивање, по могућству користећи микродилутер, преносећи 50 µL из прве јаме у другу, затим 50 µL из друге у трећу и тако даље до шесте јаме. 50 µL из шесте јаме се потом одбацује.

На овај начин се добијају разређења од 1:80 до 1:2560.

- Додајте 50 µL разређеног серума у седми бунар.

Измешајте серум са BUF реагентом, а затим одбаците 50 µL.

Ова дилуција (1:80) је контрола серума, чија је улога да открије природне анти-овче аглутинине који би могли бити присутни у одређеним узорцима серума.

- Пажљиво протресите реагенсе R1 и R2.

• Додајте по 1 капљицу реагенса R1 у првих 6 јама.

• Додајте 1 капљицу реагенса R2 у седми бунац (контрола серума).

• Додајте 1 кап R1 реагенса у осму јаму (контрола реагенса), чија је улога да провери ваљаност BUF и R1 реагенса.

**Напомена:** Извршите само једну контролу реагенса за сваку серију тестова.

- Врло пажљиво протресите садржај јама:

• или ручно, лаганим бочним тапшавањем стране микроплада која је постављена равно на радну површину;

• или коришћењем вибрационог тресача за микротитер плоче (на пример на 1300 обртаја у минути током 10 секунди). Не користите орбитални тресач.

- Затим оставите плочу недирнутом, заштићену од вибрација, на собној температури између 15 и 30 °C.

- Прочитајте реакцију након 2 сата. Резултати се могу тумачити након најмање 1,5 сата и до највише 24 сата.

#### 9.3 – Адапција природних анти-овчих аглутинина у случају аглутинације серумске контроле

- Пажљиво протресите реагенс R3.

- У епрувету додајте и измешајте:

- 0,1 mL серума;
- 0,3 mL реагенса R3.

- Инкубирати на собној температури 60 минута.

- Центрифугирајте на 2000 обртаја у минути 15 минута.

- Сакупите супернатант; серум је сада разређен у односу 1:4.

- Извршите разређивање супернатанта у BUF реагенту у односу 1:10 како бисте добили адсорбовано складишно разређење (1:40).

- Пратите кораке описане у "Реализација теста на микроплачи", али замените разблажење стандарда разблажењем стандарда адсорбованог.

### 10 – ЧИТАЊЕ

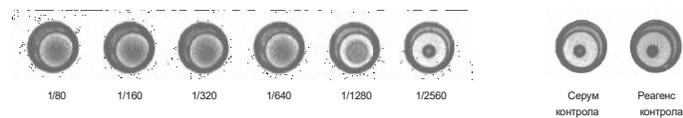
**Негативна реакција:** Одсуство хемоаглутинације.

Присуство више или мање великог прстена на дну јаме.

**Позитивна реакција:** Присуство хемоаглутинације.

Присуство мутног црвеног/смеђег талога који прекрива добро, понекад је присутна фина периферна ивица

**Пример:** позитиван серум у разређењу 1/1280



### 11 – ТУМАЧЕЊЕ РЕЗУЛТАТА

**Титар < 1/160:** Незначајна реакција.

Вероватна одсуство хидатидозе.

Поновите тест за 2 до 3 недеље и комбинујте га са имуноблот анализом.

**Титар = 1/160:** Сумњива реакција.

Поновите тест за 2 до 3 недеље и комбинујте га са имуноблот анализом.

**Титар ≥ 1/320:** Значајна реакција у прилог прогресивне хидатидозе. **12 –**

### УНУТРАШЊА КОНТРОЛА КВАЛИТЕТА

Реагенси CONTROL+ и CONTROL- морају се третирати као тест серуми. Титар реагенса CONTROL+ мора бити исти као титар отштампан на етикету флашице ± једно разређивање. Не сме бити никакве хемаглутинације CONTROL-. Ако је хемаглутинација присутна, тест није важећи.

### 13 – УЗРОЦИ ГРЕШАКА И ОГРАНИЧЕЊА ТЕСТА

- Неправилно чување серума.
- Неправилно чување реагенса након отварања.
- Користите само дозаторе који су приложени уз комплет
- Користите само плоче из комплета са бунарчићима који имају дно у облику слова У.
- Не мешајте пилете између реагенса R1 и R2.
- У случају позитивне реакције у првих шест јама, извршите даље серијско разређивање како бисте одредили границу титра хемаггутинације.
- Контрола серума мора дати негативну реакцију (прстен). У случају хемаггутинације ове контроле, неопходно је обновити тест након што се из серума адсорпцијом уклоне природни анти-овчи аглутинини.
- Контрола реагенса мора дати негативну реакцију (прстен). У случају хемоаггутинације ове контроле, комплет **ELI.H.A Echinococcus** се не може користити.
- Одређени серуми чија је концентрација антитела веома висока могу изазвати феномен зоне (са нестанком замућења) у почетним разређенима, који нестаје у наредним разређењима.
- Квалитет реагенса омогућава спровођење реакције увече и читање теста следећег јутра, под условом да се микропланкета ни на који начин не помера и да је заштићена од било ког извора вибрација.
- Немојте поново користити бунар који је већ био коришћен за спровођење теста.
- Француска номенклатура медицинских биолошких процедура прописује да се за серолошко скринирање за ехинокозоу потрага по антителима *protiv Echinococcus* мора спровести коришћењем две различите технике. То је како би се елиминисали сви непознати интерференти. Укупна интерпретација ове серологије стога мора бити заснована на резултатима различитих примењених техника. У свим случајевима неопходно је да се клинички, епидемиолошки и биолошки подаци у потпуности узму у обзир пре утврђивања коначне дијагнозе.
- Без померања или вибрација микропластине, тест се може извршити увече и прочитати следећег јутра (тј. након максималног времена реакције од 24 сата).

### 14 – ПЕРФОРМАНСЕ

#### 14.1 – АНАЛИТИЧКЕ МОГУЋНОСТИ

##### 14.1.1 – Понављаност

На позитивном серуму уређај има 100% понављаност уз прихватљиву толеранцију разлике од једног леја. На негативном серуму уређај има 100% понављаност без толеранције за позитивност у резултату. Бунари за контролу серума и контролу реагенса имају 100% понављаност.

##### 14.1.2 – Репродуктивност

На позитивном серуму уређај има 100% репродуктивност са прихватљивом толеранцијом разлике од једног бунара. На негативном серуму уређај има 100% репродуктивност без толеранције за позитивност у резултату. Бунари за контролу серума и контролу реагенса имају 100% репродуктивност.

##### 14.1.3 – Интерференција

Због високе генетске хомологије између две врсте *Ехинокока*: *E. multilocularis* и *E. granulosus*, неопходни су секундарни тестови како би се искључила укрштена реактивност (9).

Укрштене реакције су примењене са позитивним узорцима за антитела *protiv Fasciola* или антитела *protiv S. mansoni* (2).

Уароковане су укрштене реакције са узорцима пацијената са токсоплазмозом, ХИВ-ом, Епштајн-Бар вирусом, аспергилозом, филаријазом и клонорхијазом (1,3).

Потенцијално мешање са хемоглобином, липидима и билирубином проучавано је у складу са препорукама CLSI EP07 (4,5,6,7,8).

Није откривено значајно мешање до следећих максималних концентрација:

Испитане супстанце	Максималне концентрације
Билирубин	800 mg/L
Липиди	15 г/л
Хемоглобин	10 g/L

Детаљна преглед литературе омогућио нам је да искључимо потенцијалне интеракције лекова, истовремено сведући на најмању меру ризик повезан са свим још увек неидентификованим интерферентима.

#### 14.2 – КЛИНИЧКЕ ПЕРФОРМАНСЕ

**ELI.H.A Echinococcus** се састоји од црвених крвних зрнаца сензибилисаних антигеном *Echinococcus granulosus*. Обезбеђује осетљивост и специфичност у реакцији. Истраживање на 221 људском серуму показало је осетљивост од 93,0% (без обзира на локацију цисте) и специфичност од 94,9%. Поређења са IFI и ELISA тестовима показала су изразиту комплементарност између ових различитих реакција (1).

Клиничка ефикасност комплета **ELI.H.A Echinococcus** процењена је прегледом научне литературе засноване на пет публикација из периода од 2009. до 2023. године (2,10,11,12,13).

Добијени су следећи резултати:

Табела 1: Клиничка ефикасност за праг од 1/160

Студија	Студија бр. 4 [12]
Година објављивања	2023
Популација	23 серума од пацијената са сумњом на цистичну ехинокозоу
Компаративна метода (референтни стандард)	Хистопатолошки преглед
Сензитивност 1/160	94% <sup>a</sup>
Специфичност 1/160	100% <sup>a</sup>
PPV <sup>a</sup> 1/160	100% <sup>a</sup>
NPV <sup>a</sup> 1/160	85,7% <sup>a</sup>

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

Испитивање	Истраживање бр. 1 [10]			Истраживање бр. 2 [11]		Студија бр. 3 [2]	
	2009			2024		2010	
Популација	19 серума од пацијената са плућним хидатидним цистама	40 серума од пацијената са паразитозом и другим плућним болестима	20 серума од здравих особа	74 серума од пацијената са сумњом на цистичну ехинокозоу (51 жена и 23 мушкарца старости од 3 до 86 година)	30 серум од пацијената са цистичном ехинокозом и без других паразитолошких инфекција	30 серума од пацијената са другим паразитозама, <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 серума од пацијената без паразитоза
Компаративна метода (референтни стандард)	Радиј резултати	HP	HP	Резултати клиничких и радиолошких извештаја	Клиничка анализа и хирургија	HP	HP
Сензитивност 1/320		73,6%		70,8%			86,7%
Специфичност 1/320		98,3%		96,2%			95%
PPV <sup>a</sup> 1/320		93,3%		97,1%			92,9%
NPV <sup>a</sup> 1/320		92,1%		64,1%			90,5%

Истраживање	Истраживање бр. 4 [12]		Истраживање бр. 5 [13]	
	2023		2016	
Популација	23 серума од пацијената са сумњом на цисту ехинокозоу	18 серум од деце са цистичном ехинокозом	27 серум од одраслих са цистичном ехинокозом	20 серум од здравих особа
Компаративна метода (референтни стандард)	Гистопатолошко испитивање		Клинички преглед и медијско снимање	
Сензитивност 1/320	82,4% <sup>a</sup>		88,9% <sup>a</sup>	
Специфичност 1/320	100% <sup>a</sup>		100% <sup>a</sup>	
PPV <sup>a</sup> 1/320	100% <sup>a</sup>		100% <sup>a</sup>	
NPV <sup>a</sup> 1/320	66,7% <sup>a</sup>		80% <sup>a</sup>	

<sup>a</sup>: PPV: Позитивна предиктивна вредност

<sup>a</sup>: NPV: Негативна предиктивна вредност

<sup>a</sup>: Вредност израчуната од стране ELITech Microbio

У научној литератури клиничка осетљивост и специфичност при прагу значаја 1/160 износе 94% и 100%, респективно.

За праг значајности 1/320, клиничка осетљивост и специфичност крећу се од 73,6% до 88,9% и од 95% до 100%, респективно. За праг значајности 1/160, PPV је 100%, а NPV је 85,7%.

За праг значајности 1/320, PPV варира од 92,86% до 100%, а NPV од 66,67% до 92,1%.

### 15 – ЕЛИМИНАЦИЈА ОТПАДА

Отпад треба одлагати у складу са хигијенским правилима и важећим прописима за ову врсту производа у земљи и употребе.

Уколико се проспе BUF реагенс, очистите радно место упијајућим папиром и исперите водом. Уколико се на радном месту проспе серум или други реагенс, очистите средством за белјење и упијајућим папиром.

### 16 – БИБЛИОГРАФИЈА

1. П. Амбруаз-Томас, П.-Т. Дежеорж, М. Бајард, А. Грос - Индиректна хемаггутинација у серо-дијагностици гидатозе. Упоредије са индиректним имунофлуоресценцијом и ЕЛИЗА техником - Lyon Medical, 1979, 241, 755-759.
2. El-Shazy AM, Saad RM, Belal US, Sakr T, Zakae HA. Евалуација ЕЛИЗА и ИХАТ у серолошкој дијагнози доказаних случајева људске хидатидозе. J Egypt Soc Parasitol. 2010;40(2):531-538.
3. Van Doorn HR, Hofwegen H, Koelewijn R, и др. Поуздана серодијагноза увезене цистичне ехинокозоу помоћу комерцијалног индиректног теста хемаггутинације. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007;57(4):409-412.
4. Lo SY, Saifee NH, Mason BO, Greene DN. Порућавање празина нестандарним телесним течностима. Pract Lab Med. 2016 Mar 16;5:24-31. doi: 10.1016/j.plabm.2016.03.003. PMID: 28856201; PMCID: PMC5574517.
5. CLSI. Тестирање интерференције у клиничкој хемији. 3. изд. CLSI смерница EP07. Вејн, Пенсилванија: Институт за клиничке и лабораторијске стандарде; 2018. стр. 23-24
6. CLSI. Додатне табеле за тестирање интерференције у клиничкој хемији. 1. изд. CLSI додатак EP37. Вејн, Пенсилванија: Институт за клиничке и лабораторијске стандарде; 2018. стр. 94-96
7. Хипербилрубинемии новорођенчади - Педијатрија - Професионално издање MSD приручника § Етиологија хипербилрубинемии новорођенчади стр. 5 (msdmanuals.com)
8. Билирубин - Биолошке норме - Курс IFSI - Идејне картице §Присуство жутице стр. 3 (fiches-ide.fr)
9. Schwarz NG, Loderstaedt U, Hahn A, и др. Микробиолошка лабораторијска дијагностика занемарених зоонозних болести (NZDs). Acta Trop. 2017;165:40-65. doi:10.1016/j.actatropica.2015.09.003
10. Eris FN, Akisu C, Aksoy U. Евалуација два ELISA и два индиректна хемаггутинациона теста за серодијагнозу пулмоналне хидатидозе. Korean J Parasitol. 2009;47(4):427-429. doi:10.3347/kjp.2009.47.4.427
11. Erganis S, Sarzhanov F., Al F.D. у др. Поређење метода у серолошкој дијагнози цистичне ехинокозоу. Acta Parasit. 69, 1122-1131 (2024). <https://doi.org/10.1007/s11686-024-00840-z>
12. Yülek Ö, Genç Bağcı Y, Demir N. Важност индиректног теста хемаггутинације у дијагнози цистичне ехинокозоу: серолошко-хистопатолошка корелација. Cerrahpaşa Med J. 2023;47(2):129-134.
13. El-Ghareeb AS, Waked NM, Al-Feky HM. КЛИНИЧКЕ И ПАРАЗИТОЛОШКЕ СТУДИЈЕ О ПЛУЋНИМ И ЈЕТРЕНИМ ГИДРАТИДНИМ ЦИСТАМА КОД ХОСПИТАЛИЗОВАНЕ ДЕЦЕ И ОДРАСЛИХ. J Egypt Soc Parasitol. 2016;46(1):9-18. doi:10.12816/0026145

Сваки озбиљан инцидент у вези са уређајем мора бити пријављен произвођачу и надлежном телу државе чланице у којој је корисник установен.

Промене у односу на претходну верзију су означене сивом бојом.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau

Allée d'Athènes

8370 SIGNES - France

☎: 33 (0)4 94 88 55 00

<http://www.elitechgroup.com>

