

# ELI.H.A *Echinococcus* / ELI.H.A *Ekinokok*

## Hidatidozun serodiagnozu dolaylı hemaglutinasyonu

102 Dene  
(Ref. 66604)

8000140-TR-2012-01

Yalnızca in vitro diagnostik kullanım içindir, sadece profesyonel kullanım içindir.  
Tek kullanımlık testler.



### 1 - HEDEF

ELI.H.A *Ekinokok* karşı yönlendirilen serum antikorlarının kantitatif olarak belirlenmesini sağlar. *Ekinokokus granulozus* dolaylı hemaglutinasyonu ile. Kit, 102 testin veya 6 dilüsyonun 17 reaksiyonunun gerçekleştirilmesine izin verir.

### 2 - ÖNSÖZ

Hidatidoz veya ekinokokkoz, cinsin bir sestodunun larvasının (hidatik hidatik) insanlar dahil ara konakta gelişmesine karşılık gelen paraziter bir hastalıktır. *Ekinokok*. Devir *Echinococcus granulosus*'un köpeği son konak olarak içerir ve koyun veya daha az yaygın olarak, ara konakçı olarak insan olabilir. Hidatidin karaciğer seviyesinde lokalizasyonu en yaygın olanıdır (%50 ila 70), bunu akciğer lokalizasyonu (%25 ila 40) takip eder. hidatidoz *Ekinokokus granulozus* yavaş evrimi ve sinsi görünümü ile karakterizedir. Çok az semptomatik kalır ve biyolojik tanı esas olarak antikor testi yoluyla immünoolojik olarak yapılır.

### 3 - PRENSİP

ELI.H.A *Distomu* indirekt hemaglutinasyonu ilkesine dayanır. Hassaslaştırılmış kırmızı kan hücreleri, bir antijenle kaplı koyun kırmızı kan hücrelerinden oluşur. *Ekinokok granulosus*. karşı serum antikorlarının varlığı *hepatik fasciola* hassaslaşmış kırmızı kan hücrelerinin bir araya toplanmasına neden olarak kupulayı kaplayan kırmızı/kahverengi bir örtüye neden olur. Spesifik antikorların yokluğunda, bu kırmızı kan hücreleri bir halka şeklinde kuyucuğun dibine yerleşir. Duyarlılaştırılmamış kırmızı kan hücreleri, reaksiyonun özgülüğünü sağlar ve doğal anti-koyun aglutininleri (Forsman'ın heteroantikorları, enfeksiyöz mononükleöz antikorları, vb.) tarafından müdahalelerin ortadan kaldırılmasına izin verir. Reaksiyon, U-şekilli bir mikrotitre plakasında gerçekleşir. İşleme hızlı ve kolaydır. Sonuçlar 2 saat içinde alınır.

### 4 - REAKTİFLER VE MALZEME

Tanım	Adet
<b>R1</b> : 2.2 mL duyarlı kırmızı kan hücresi şişesi	1
<b>R2</b> : 1 mL duyasız kırmızı kan hücresi şişesi	1
<b>BUF</b> : 55 mL flakon fosfat tamponu pH 7.2	1
<b>R3</b> : 2 mL adsorban şişesi	1
<b>CONTROL +</b> : 0.2 mL titre edilmiş pozitif kontrol şişesi	1
<b>CONTROL -</b> : 0.2 mL negatif kontrol şişesi.	1
<b>MİKRO PLAKA</b> : U-şekilli mikropilaka	2
<b>DROPPER</b> : özel damlalık	2

### 5 - KULLANIM ÖNLEMLERİ

- Reaktifler şunlara yöneliktir: *laboratuvar ortamında* teşhis ve yetkili personel tarafından ele alınmalıdır.
- Testler tek kullanımlıktır.
- Reaktif dışındaki tüm reaktifler **BUF**, hayvansal kökenli maddeler içerir ve dikkatli kullanılmalıdır.
- Örnekler potansiyel olarak bulaşıcıdır. Olağan önlemlerle ve kullandıkları ülkede yürürlükte olan hijyen yönetmeliklerine uygun olarak kullanılmalıdır.
- **CONTROL** flakonlar sodyum azid içerir (konsantrasyon < %0,1)
- Son kullanma tarihi geçmiş reaktifleri kullanmayın.
- Farklı partilerden reaktifler veya kontroller kullanmayın.
- Serum ve reaktiflerin oda sıcaklığına ulaşmasını bekleyin.
- Reaktifleri sallayın **R1** ve **R2** kullanmadan önce dikkatli olun.
- Reaktifleri uygularken **R1** ve **R2** damlacığının tamamen dikey olduğundan emin olunmalıdır. Verilen hacimlerin sabit olması için damlalarda hava kabarcığı olmadığını kontrol edin.

### 6 - NUMUNE TOPLAMA VE İŞLEME

-20°C'de saklanan ve bulanık hemoliz veya kontaminasyon göstermeyen taze serum veya serum kullanın.  
Tekrar tekrar dondurup çözündürmekten kaçının.  
Serumu asla parçalamayın.

### 7 - REAKTİFLERİN SAKLANMASI VE HAZIRLANMASI

Reaktifler kullanıma hazırdır.  
2-8°C'de saklanan tüm reaktifler, paket üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir. Dondurulmamaları gerekir.

### 8 - GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN MALZEMELER

- Ölçülecek miktara uyarlanmış bir pipetleme hacmine sahip otomatik pipet(ler);
- Kirlenmiş atık malzeme için kaplar;
- Bir santrifüj.
- Hemoliz tüpleri.

### 9 - YÖNTEM

Kullanmadan önce reaktiflerin oda sıcaklığına gelmesini bekleyin.

#### 9.1 – Numunenin hazırlanması

Test edilecek serumu 1/40'a kadar seyreltin:  
• 50 µL serum;  
• 1,95 mL reaktif **BUF**.

#### 9.2 - Testin mikropilaka üzerinde gerçekleştirilmesi

- Çok kanallı bir mikropipet kullanarak 50 µL reaktif uygulayın **BUF** mikrotitre plakasının 8 kuyusunda.

- Bir mikropipet kullanarak, seyreltilmiş serumdan 50 µL serumu ilk kuyucuğa dağıtın.

BUF reaktifi ile karıştırın ve tercihen mikro seyreltici kullanılarak kuyucuğun içeriğinin 50 µL'sini ilk kuyucuktan ikinciyeye, ikinciden üçüncüye aktarın ve bu işlemi altıncı kuyucuğa kadar devam ettirin ve altıncı kuyucuğun içeriğinin 50 µL'sini dışarı atın. Böylelikle 1:80 ile 1:12560'lık dilüsyonlar elde edilir.

- Yedinci kuyucuğa seyreltilmiş 50 µL serumu aktarın.

Serum ile BUF reaktifini karıştırın ve 50 µL'sini dışarı atın. Bu seyreltme (1/80), bazı serum örneklerinde bulunabilen doğal anti-koyun aglutininlerini saptayabilmek amacıyla serum kontrolü olarak kullanılır.

- **R1** ve **R2** reaktiflerini dikkatlice çalkalayın.

- İlk 6 kuyucuğa birer damla **R1** reaktifi ekleyin.
- Serum kontrol kuyucuğu olan yedinci kuyucuğa bir damla **R2** reaktifi koyun.
- **BUF** ve **R1** reaktiflerinin kullanılabilirliğini kontrol etmek amacıyla sekizinci kuyucuğa (ayrıca kontrol kuyucuğu) bir damla **R1** reaktifi koyun.

**Not:** Her mikropilaka için sadece bir kuyucuk reaktif kontrolü kullanın.

- Kuyulann içeriklerini dikkatlice homojenize edin:

- ya elle, düz yerleştirilmiş mikropilagin kenarlarına hafifçe vurarak;
- veya bir mikrotitre plakalı titreşimli karıştırıcı vasıtasıyla (örn. 10 saniye boyunca 1300 rpm). Orbital bir karıştırıcı kullanmayın.

- Sonrasında plak titreşimsiz, düz bir zemin üzerine yerleştirilerek hareketsiz kalmasını sağlayın

- Reaksiyonu 2 saat sonra okuyun.

#### 9.3 - Serum kontrolünün aglutinasyonu durumunda doğal anti-koyun aglutininlerinin adsorpsiyonu

- **R3** reaktifini dikkatlice çalkalayın.

- Bir tüpe koyun ve aşağıdakilerle karıştırın:

- 0.1 mL serum;
- 0.3 mL reaktif **R3**.

- Oda sıcaklığında 60 dakika inkübe edin.

- 2000 rpm'de 15 dakika santrifüjleyin.

- Süpernatantı toplayın; serum daha sonra 1/4 oranında seyreltin.

- Absorbe edilmiş bir stok dilüsyonu (1/40) elde etmek için BUF reaktifinde süpernatantı 1/10 oranında seyreltin.

- Stok dilüsyonunu adsorbe edilmiş stok dilüsyonu ile değiştirerek "Testin mikropilaka üzerinde gerçekleştirilmesi" protokolünü tekrarlayın.

### 10 – SONUÇLARIN OKUNMASI

**Negatif reaksiyon:** Hemaglutinasyon eksikliği.

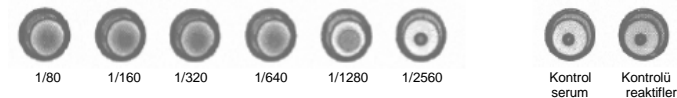
Kuyunun dibinde az çok geniş bir halkanın varlığı.

**Pozitif reaksiyon:**

Hemaglutinasyon varlığı.

Kuyucuk örten kırmızı/kahverengi bir örtünün varlığı; ince bir periferel hatın varlığı.

Örnek: 1/1280'de serum pozitif



### 11 - SONUÇLARIN YORUMLANMASI

**Titre < 1/160:**

**Önemsiz reaksiyon**

Muhtemel hidatidoz yokluğu.  
2 ila 3 hafta sonra testi tekrarlayın ve elektrosentez veya immünoelektroforez testi gerçekleştirin.

**Titre = 1/160:**

**Güvenilmez reaksiyon**

2 ila 3 hafta sonra testi tekrarlayın ve elektrosentez veya immünoelektroforez testi gerçekleştirin.

**Titre ≥ 1/320:**

**Progresif hidatidoz lehine anlamlı reaksiyon.**

### 12 - İÇ KALİTE KONTROLÜ

Reaktifler **CONTROL+** ve **CONTROL-** analiz sırasında serum olarak ele alınmalıdır. Reaktifin titresi **CONTROL+ ±** bir dilüsyonda flakon etiketinde belirtilen titreye eşit olmalıdır. Reaktif **CONTROL** hemaglutinasyonu olmadığını göstermelidir. Aksi takdirde, test geçerli değildir.

### 13 - HATALARIN NEDENLERİ VE TESTİN SINIRLAMALARI

- Serumun uygun olmayan koşullarda muhafaza edilmesi
- Reaktiflerin açıldıktan sonra uygun olmayan koşullarda muhafaza edilmesi.
- Yalnızca kutu içinde verilen damlalıkları kullanın.
- **R1** ve **R2** reaktifleri arasında damlalıkları değiştirmeyin.
- İlk 6 kuyucukta pozitif reaksiyon olması durumunda, limit hemaglutinasyonu titrelerini bulmak için dilüsyonları sürdürün.
- Kontrol serumu negatif reaksiyon (halka) vermezdir. Bu kontrolün hemaglutinasyonu durumunda, doğal anti-koyun aglutininleri adsorpsiyonu yoluyla serumdan elimine edildikten sonra testi tekrarlamak gerekir.
- Reaktif kontrolü negatif reaksiyon (halka) vermezdir. Bu kontrolün hemaglutinasyonu durumunda **ELI.H.A Ekinokok** reaktifi kullanılamaz.
- Antikor konsantrasyonunun çok yüksek olduğu belirli serumlarda, ilk dilüsyonda bir prozon fenomenine (açılınca) yol açabilir ve sonraki dilüsyonlarda kaybolabilir.
- Reaktiflerin kalitesi, mikropilakanın herhangi bir hareketle maruz kalmaması ve titreşimlerden korunması koşulluyla, reaksiyonun aşamayı yürütülmesini ve ertesi sabah okunmayı mümkün kılar.
- Her durumda ve kesin tanı konulmadan önce testin yorumlanması, tüm klinik, epidemiyolojik ve biyolojik verilerin ve diğer testlerin sonuçları birleştirilerek yapılmalıdır.

### 14 - PERFORMANSLAR

**ELI.H.A Ekinokok** antijeni tarafından hassaslaştırılmış kırmızı kan hücrelerinden oluşur. *Ekinokok granuloz*. Reaksiyon için duyarlılık ve özgüllük garanti eder. 221 insan serumu üzerinde yapılan bir çalışma, %93.0 duyarlılık (kistlerin konumundan bağımsız olarak) ve %94.9 özgüllük göstermiştir. IFI ve ELISA testi ile yapılan karşılaştırmalar, bu farklı reaksiyonların birbirini dikkate değer bir şekilde tamamladığını göstermiştir (2).

### 15 – ATIKLARIN İMHASI

Atıklar, kullanım ülkesindeki bu gibi reaktifler için geçerli olan hijyen kurallarına ve yönetmeliklerine uygun olarak bertaraf edilmelidir.

**BUF** reaktifinin kazara dökülmesi durumunda; çalışma yüzeyini emici kağıt ile temizleyin ve su ile durulayın. Serum veya başka bir reaktif dökülürse, çamaşır suyu ve emici kağıt ile temizleyin.

### 16 - KAYNAKÇA

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'Hydatidose - *La nouvelle presse médicale*, 1980, 9, n°5, 305-309.
4. P. PLESSON, N. LEGER, G. MADULO-LEBLOND - Diagnostic immunologique en parasitologie et en mycologie - *Le Pharmacien Biologiste*, Tome XIII, n°123, 417/55-60.

Önceki sürümdeki değişiklikler gri renkte vurgulanır.

**ELITech MICROBIO**

Parc d'activités du Plateau

Allée d'Athènes

83870 SIGNES

FRANSA

☎: 33 (0)4 94 88 55 00

Faks.: 33 (0)4 94 32 82 61

http://www.elitechgroup.com

