

ELI.H.A Distoma

Serodiagnose van distomatose door indirecte hemagglutinatie

102 testen
(Ref. 66606)

8000150-DU-2012-09

Alleen voor diagnostisch gebruik *in vitro*, alleen voor professioneel gebruik.
Tests voor eenmalig gebruik.



1 - DOEL

ELI.H.A Distoma maakt de kwantitatieve bepaling mogelijk van serumantilichamen gericht tegen *Fasciola hepatica* door indirecte hemagglutinatie. Met de kit kunnen 102 testen of 17 reacties van 6 verdunningen worden uitgevoerd.

2 - INLEIDING

Distomatosen zijn parasitosen door trematoden en afhankelijk van de locatie van volwassenen in de eindgastheer wordt er onderscheid gemaakt tussen:

- Hepatobiliaire distomatose
- intestinale distomatose
- longdistomatose

Onder de hepatobiliaire distomatosen heeft die soort die veroorzaakt wordt door *Fasciola hepatica* een evolverende cyclus in de definitieve gastheer, met inbegrip van de mens, die een transperitoneale en transhepatische larvale migratiefase omvat. De biologische diagnose van deze parasitose tijdens de invasiefase is in wezen immunologisch door het zoeken naar antilichamen (fase waarbij er geen uitstoot van eitjes in de ontlasting is). Deze immunologische diagnose is ook van groot belang aan het begin van de staatsfase, omdat eitjes in kleine hoeveelheden worden uitgestoten.

3 - PRINCIPE

ELI.H.A Distoma is gebaseerd op het principe van indirecte hemagglutinatie. De gesensibiliseerde rode bloedcellen bestaan uit rode bloedcellen van schapen bedekt met een antigeen van *Fasciola hepatica*.

De aanwezigheid van serumantilichamen tegen *Fasciola hepatica* zorgt ervoor dat gesensibiliseerde rode bloedcellen samenklonteren, wat resulteert in een rood/bruine sluijer die de cupula bedekt. Bij gebrek aan specifieke antilichamen bezinken deze rode bloedcellen op de bodem van de cupula in de vorm van een ring. De niet-gesensibiliseerde rode bloedcellen zorgen voor de specificiteit van de reactie en maken de eliminatie mogelijk van de interferenties door natuurlijke antischaap-agglutinenen (Forssmans hetero-antilichamen, antilichamen van infectieuze mononucleose, etc.).

De reactie vindt plaats in een U-vormige microtiterplaat.

De hantering is snel en eenvoudig. Resultaten worden verkregen in 2 uur.

4 - REAGENTIA EN MATERIAAL

Beschrijving	Aantal
R1 : flacon van 2,2 mL met gesensibiliseerde rode bloedcellen	1
R2 : flacon van 1 mL met niet-gesensibiliseerde rode bloedcellen	1
BUF: flacon van 55 mL fosfaatbuffer pH 7,2	1
R3 : flacon van 2 mL adsorbens	1
CONTROL +: flacon van 0,2 mL van getitreerde positieve controle	1
CONTROL -: flacon van 0,2 mL van negatieve controle.	1
MICROPLATE: U-vormige microtiterplaat	2
DROPPER: speciale druppelaar	2

5 - VOORZORGEN BIJ GEBRUIK

- Reagentia zijn alleen bedoeld voor *in-vitro*-diagnose en dienen door geautoriseerd personeel te worden gehanteerd.
- De testen zijn voor eenmalig gebruik.
- Alle reagentia, behalve het reagens BUF, bevatten stoffen van dierlijke oorsprong en dienen voorzichtig te worden gehanteerd.
- De monsternemingen zijn potentieel besmettelijk. Ze moeten worden gehanteerd met de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen en met inachtneming van de in het land van gebruik geldende hygiënevoorschriften.
- CONTROL-flacons bevatten natriumazide (concentratie < 0,1%)
- Gebruik reagentia niet langer dan de vervaldatum.
- Gebruik geen reagentia of controles uit verschillende batches.
- Wacht tot het serum en de reagentia op kamertemperatuur komen.
- Schud de reagentia R1 en R2 voorzichtig vóór gebruik.
- Bij het toedienen van reagentia R1 en R2 moet ervoor worden gezorgd dat de druppelaar perfect verticaal staat. Controleer of er geen luchtbelletjes in de druppels zitten, zodat de geleverde volumes constant zijn.

6 - VERZAMELING EN VERWERKING VAN MONSTERS

Gebruik verse serums of serums die bij -20 °C bewaard worden en die geen troebele hemolyse of verontreiniging vertonen.

Voorom herhaaldelijk invriezen en ontdooien.

Het serum nooit decomplementeren.

7 - OPSLAG EN BEREIDING VAN REAGENTIA

De reagentia zijn klaar voor gebruik.

Alle reagentia die bij 2-8 °C worden bewaard, zijn stabiel tot de op de verpakking vermelde uiterste gebruiksdatum. Zij mogen niet worden bevroren.

8 - BENODIGD, MAAR NIET MEEGELEVERD MATERIAAL

- Automatische pipet(ten) met een aan de te meten hoeveelheid aangepast pipetteringsvolume;
- Containers voor verontreinigd afvalmateriaal;
- een centrifuge;
- Hemolysebuisjes.

9 - WERKWIJZE

Laat reagentia vóór gebruik op kamertemperatuur komen.

9.1 - Voorbereiding van het monster

Verdun het te testen serum tot 1/40:

- 50 µL serum;
- 1,95 mL van reagens BUF.

9.2 - Uitvoering van de test op microtiterplaat

- Breng met behulp van een meerkanale micropipet 50 µL reagens BUF in 8 putjes van de microtiterplaat.
- Breng met behulp van een micropipet 50 µL van het verdunde serum in het 1^o putje. Meng met het reagens BUF en breng, bij voorkeur met behulp van een microverdunner ("tulp"), 50 µL van het 1^o putje in het 2^o putje, van het 2^o putje in het 3^o, en ga zo maar door tot het 6^o putje, waarbij 50 µL van het 6^o putje wordt weggegooid. Dat resulteert in verdunningen van 1/80 tot 1/2560.

- Breng 50 µL van het verdunde serum over in het 7^o putje. Meng met het reagens BUF en gooi 50 µL weg.

Deze verdunning (1/80) vormt de serumcontrole die tot taak heeft de natuurlijke antischaapagglutinenen die bepaalde serums kunnen bevatten, op te sporen.

- Schud de reagentia R1 en R2 voorzichtig.
 - Breng 1 druppel reagens R1 in de eerste 6 putjes.
 - Plaats 1 druppel reagens R2 in het 7^o putje (serumcontrole).
 - Breng 1 druppel reagens R1 in het 8^o putje (reagentiacontrole) die tot taak heeft de validiteit van het reagens BUF en het reagens R1 te controleren.

Opmerking: voer slechts één reagentiacontrole uit per testreeks.

- Homogeniseer de inhoud van de putjes zeer zorgvuldig:
 - ofwel met de hand, door te tikken op de zijkanen van de plat gepositioneerde microtiterplaat;
 - ofwel door middel van een trilroerder voor microtiterplaten (bijvoorbeeld 1300 omw/min gedurende 10 seconden). Gebruik geen ronde roerder.
- Laat de plaat vervolgens onbeweeglijk en volledig trillingsvrij liggen.
- Lees de reactie 2 uur later.

9.3 - Adsorptie van natuurlijke antischaapagglutinenen in geval van agglutinatie van de serumcontrole

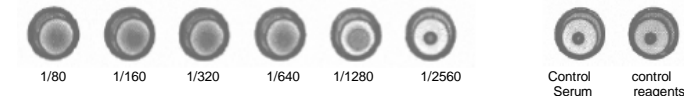
- Schud het reagens R3 voorzichtig.
- Plaats het in een buisje en meng het:
 - 0,1 mL serum;
 - 0,3 mL reagens R3.
- Laat 60 min incuberen bij kamertemperatuur.
- Centrifugeer bij 2000 omw/min gedurende 15 min.
- Verzamel het supernatant; het serum wordt vervolgens verdund tot 1/4.
- Verdun het supernatant tot 1/10 in reagens BUF om een geadsorbeerde moederverdunning (1/40) te verkrijgen.
- Herhaal het protocol van "Uitvoering van de test op microtiterplaat" en vang de moederverdunning door de geadsorbeerde moederverdunning.

10 - AFLEZING

Negatieve reactie: Afwezigheid van hemagglutinatie.
Aanwezigheid van een min of meer brede ring aan de onderkant van het putje.

Positieve reactie: Aanwezigheid van hemagglutinatie.
Aanwezigheid van een rode/bruine sluijer die het putje bedekt; aanwezigheid van een dunne perifere strook.

Voorbeeld: serum positief op 1/1280



11 - INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

Titer < 1/160: Niet-aanzienlijke reactie.
Waarschijnlijk geen distomatose.
Herhaal de test 2 tot 3 weken later en gebruik een elektrosynthese of immuno-elektroforese.

Titer = 1/160: Onbetrouwbare reactie.
Herhaal de test 2 tot 3 weken later en gebruik elektrosynthese of immuno-elektroforese.

Titer > 1/320: Significante reactie ten voordele van progressieve distomatose.

12 - INTERNE KWALITEITSCONTROLE

De reagentia CONTROL+ en CONTROL- moeten tijdens de analyse als serums worden behandeld. De titer van het reagens CONTROL+ moet gelijk zijn aan de titer vermeld op het etiket van de flacon bij ± een verdunning. Het reagens CONTROL moet een afwezigheid van hemagglutinatie vertonen. Als dat niet het geval is, is de test niet geldig.

13 - OORZAKEN VAN FOUTEN EN BEPERKINGEN VAN DE TEST

- Slechte opslag van het serum.
- Slechte opslag van reagentia na opening.
- Gebruik alleen de meegeleverde druppelaars in de kit.
- Wissel de druppelaars niet uit tussen de reagentia R1 en R2.
- Bij een positieve reactie in de eerste 6 putjes, dient u verder te gaan met de verdunningen om te zoeken naar de limiethemagglutinatietiter.
- De serumcontrole moet een negatieve reactie geven (ring). In geval van hemagglutinatie van deze controle moet de test worden herhaald nadat de natuurlijke antischaapagglutinenen door adsorptie uit het serum zijn verwijderd.
- De reagentiacontrole moet een negatieve reactie geven (ring). In geval van hemagglutinatie van deze controle, is het reagens ELI.H.A Distoma niet bruikbaar.
- Sommige serums, waarvan de concentratie van antilichamen zeer hoog is, kunnen bij de eerste verdunningen een zonefenomeen (met retractie van de sluijer) veroorzaken, dat bij de volgende verdunningen verdwijnt.
- De kwaliteit van de reagentia maakt het mogelijk om de reactie 's avonds uit te voeren en de aflezing de volgende ochtend, op voorwaarde dat de microtiterplaat niet wordt verplaatst en tegen trillingen wordt beschermd.
- In alle gevallen, en voordat de definitieve diagnose wordt gesteld, moet de interpretatie van de test worden gerealiseerd met de integratie van alle klinische, epidemiologische en biologische gegevens en de resultaten van andere tests.

14 - PRESTATIES

ELI.H.A Distoma bestaat uit rode bloedcellen gesensibiliseerd door een antigeen van *Fasciola hepatica*. Dat garandeert gevoeligheid en specificiteit voor de reactie. Zo tonen de resultaten van de testevaluatie een gevoeligheid van 96,1% en een specificiteit van 96,6%.

15 - AFVALVERWIJDERING

Afval dient te worden afgevoerd in overeenstemming met de in het land van gebruik voor dit type product geldende hygiënevoorschriften en wetgeving. In geval van accidenteel morsen van reagens BUF: het werkoppervlak reinigen met absorberend papier en spoelen met water. Als er serum of een ander reagens gemorst wordt: reinigen met bleekmiddel en absorberend papier.

16 - BIBLIOGRAFIE

1. P. WATTRE, M. CAPRON, A. CAPRON - Le diagnostic immunologique de la distomatose à *Fasciola hepatica* (à propos de 105 observations) - *Lille Médical*, 3^{ème} Série, 1978, Tome XXIII, N°5, 292-296.
2. I.N.R.A. - Travaux effectués dans le cadre de l'I.N.R.A. sur la cinétique des anticorps dans Fasciolose Bovine - 1978.
3. K. DELLAGI - La Distomatose hépatique : enquête épidémiologique et étude clinique, biologique et thérapeutique à propos de 50 cas - *Université Pierre et Marie CURIE, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière*, 1981.
4. B. PESSON, N. LEGER, G. MADULO-LEBLOND - Diagnostic immunologique en parasitologie et en mycologie - *Le Pharmacien Biologiste*, Tome XIII, N° 123, 417/55-60.

De wijzigingen ten opzichte van de vorige versie zijn grijs gemarkeerd.

ELITech MICROBI

Parc d'activités du Plateau
allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE

☎: 33 (0)4 94 88 55 00
Fax.: 33 (0)4 94 32 82 61
http://www.elitechgroup.com

