

ELI.H.A *Distoma*

Serodiagnóstico de distomatosis por hemaglutinación indirecta

102 pruebas
(Ref. 66606)

8000150-ES-2025-07

Para uso en diagnóstico *in vitro*, sólo para uso profesional.
Pruebas de un solo uso.



1 – FINALIDAD

ELI.H.A *Distoma* permite la determinación cuantitativa de anticuerpos séricos *anti-Fasciola hepatica* mediante hemaglutinación indirecta. Cada kit permite realizar 102 pruebas o 17 reacciones de 6 diluciones.

2 – INTRODUCCIÓN

La distomatosis son enfermedades parasitarias causadas por trematodos. La ubicación de los gusanos adultos en el huésped da lugar a las siguientes clasificaciones:

- distomatosis hepatobiliar
- distomatosis intestinal
- hemoptisis endémica

De la distomatosis hepatobiliar, la infección por *Fasciola hepatica* se caracteriza por un ciclo de vida progresivo en el huésped definitivo humano, que incluye una fase migratoria larval transperitoneal y transhepática. El diagnóstico de *F. hepatica* es principalmente inmunológico durante la fase invasiva de la infección y se basa en la detección de anticuerpos (fase en la que no hay transmisión de óvulos fecales). El diagnóstico inmunológico también es de gran interés durante la fase temprana del estado de la enfermedad, ya que los huevos solo se emiten en pequeñas cantidades.

3 – PRINCIPIO

ELI.H.A *Distoma* se basa en el principio de hemaglutinación indirecta. Los glóbulos rojos sensibilizados consisten en glóbulos rojos de oveja cubiertos con un antígeno de *Fasciola hepatica*.

La presencia de anticuerpos séricos *anti-Fasciola hepatica* da como resultado la aglutinación de los glóbulos rojos sensibilizados, lo que da como resultado un recubrimiento de depósito rojo/marrón turbio en el cúpula. En ausencia de anticuerpos específicos, los glóbulos rojos forman un depósito en forma de anillo en el fondo del pozo.

Los glóbulos rojos no sensibilizados garantizan la especificidad de la reacción, lo que permite eliminar cualquier interferencia de las aglutininas antirrobo naturales (heteroanticuerpos de Forssman, anticuerpos contra la mononucleosis infecciosa, etc.).

La reacción se lleva a cabo en una microplaca en U.

El manejo es sencillo y rápido, con resultados en 2 horas.

4 – REACTIVOS Y MATERIAL

Descripción	Cantidad
R1: Vial de 2.2 mL de glóbulos rojos sensibilizados	1
R2: Vial de 1 mL de glóbulos rojos no sensibilizados	1
BUF: Vial de 55 mL de amortiguador de fosfato pH 7.2	1
R3: Vial de 2 mL de adsorbente	1
CONTROL +: Vial de 0.2 mL de control positivo valorado	1
CONTROL -: Vial de 0.2 mL de control negativo	1
MICROPLATE: Microplaca con fondo en U	2
DROPPER: cuentagotas especial	2

5 – PRECAUCIONES

- Los reactivos están destinados solo para uso de diagnóstico *in vitro* y deben ser manipulados por personal autorizado.
- Las pruebas son para un solo uso.
- Todos los reactivos, excepto el reactivo **BUF**, contienen materias primas de origen animal y deben manipularse con precaución.
- Las muestras de los pacientes son potencialmente infecciosas. Deben manejarse con precaución, respetando las normas de higiene y la normativa vigente para este tipo de productos en el país de uso.
- Los reactivos contienen azida sódica (concentración < 0.1%). La azida sódica contenida en los reactivos puede reaccionar con los metales pesados de las tuberías y formar compuestos explosivos. Por lo tanto, se recomienda no desecharlos por el desagüe y seguir las recomendaciones y normativas vigentes sobre eliminación de residuos.
- No utilizar después de esta fecha de caducidad.
- No utilice reactivos de diferentes números de lote.
- Antes de su uso, deje que el suero y los reactivos alcancen la temperatura ambiente.
- Agite cuidadosamente los reactivos **R1** y **R2** antes de usarlos.
- Al dispensar los reactivos **R1** y **R2**, asegúrese de que el cuentagotas esté perfectamente vertical.
- Compruebe la ausencia de burbujas de aire en las gotas para garantizar volúmenes de

entrega constantes.

6 – RECOLECCIÓN Y TRATAMIENTO DE MUESTRAS

Use suero fresco o suero conservado a -20 °C, y que no muestre ningún signo de hemólisis, turbidez o contaminación.

Evite la congelación y descongelación repetidas. No descomplimentar el suero.

7 – ESTABILIDAD, ALMACENAMIENTO Y PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Los reactivos están listos para su uso.

Todos los reactivos almacenados a 2-8°C, en su embalaje original, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la caja. No congele el producto.

8 – MATERIAL REQUERIDO PERO NO SUMINISTRADO

- Pipeta(s) automática (s) con un volumen de pipeteo adaptado al volumen que se va a medir;
- Contenedores de residuos contaminados;
- Centrifugadora
- Tubos de hemólisis.

9 – MÉTODO

Permitir que los reactivos alcanzan la temperatura ambiente antes de su uso.

9.1 – Preparación de la muestra

Realizar una dilución 1:40 del suero a ensayar:

- 50 µL de suero;
- 1,95 mL de reactivo de **BUF**

9.2 – Realización de la prueba en una microplaca

- Utilizando una micropipeta multicanal, añadir 50 µL de reactivo **BUF** a 8 cúpulas de la microplaca.
- Con una micropipeta, añadir 50 µL de suero diluido al 1^{er} cúpula. Mezclar el suero con el reactivo de **BUF** y llevar a cabo una dilución en serie, preferentemente usando un microdiluyente, transfiriendo 50 µL del 1^{er} cúpula al 2^o, luego 50 µL del 2^o al 3^o, y así sucesivamente hasta que se alcance el 6^o cúpula. Luego se desechan 50 µL de la sexta cúpula. De esta manera, se obtienen diluciones de 1:80 a 1:2560.
- Añadir 50 µL de suero diluido a la séptima cúpula. Mezclar el suero con el reactivo de **BUF** y luego desechan 50 µL. Esta dilución (1:80) es el control del suero, cuya función es detectar las aglutininas antes ovinas naturales que podrían estar presentes en ciertas muestras de suero.

- Agite cuidadosamente los reactivos **R1** y **R2**.

- Añadir 1 gota de reactivo **R1** a las primeras 6 cúpulas.
- Añadir 1 gota de reactivo **R2** a la séptima cúpula (control de suero).
- Añadir 1 gota de reactivo **R1** al 8^o pozo (control de reactivo) el papel de la puta es controlar la validez del reactivo **BUF** y **R1**.

Nota: Realizar un solo control de reactivo para cada serie de ensayos.

- Agitar con mucho cuidado el contenido de las cúpulas:
 - ya sea manualmente, golpeando lateralmente el lado de la microplaca que se ha colocado plano en el banco;
 - o mediante un agitador de placas vibratorias para placas de microtitulación (por ejemplo, a 1300 rpm durante 10 segundos). No utilice un agitador orbital.
- Ahora deja descansar la placa, lejos de cualquier fuente de vibración.
- La placa se puede leer después de 2 horas.

9.3 – Adsorción de las aglutininas antirrobo naturales en caso de aglutinación del control del suero

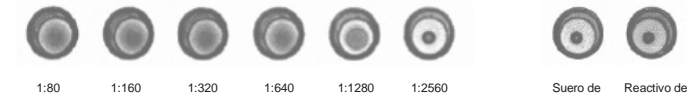
- Agite con cuidado el reactivo **R3**.
- En un tubo, añadir y mezclar:
 - 0,1 mL de suero;
 - 0,3 mL de reactivo **R3**.
- Incubar a temperatura ambiente 60 minutos.
- Centrifugar a 2000 rpm durante 15 minutos.
- Recoja el sobrenadante; el suero está ahora en dilución 1:4.
- Realizar una dilución 1:10 del sobrenadante en el reactivo de **BUF** para obtener una dilución madre adsorbida (1:40).
- Siga los pasos descritos en "Realización de la prueba en una microplaca", pero reemplace la dilución madre por la dilución madre adsorbida.

10 - Lectura

Reacción negativa: Ausencia de hemaglutinación.
Presencia de un anillo más o menos grande en el fondo del pozo.

Reacción positiva: Presencia de hemaglutinación.
Presencia de un recubrimiento de depósito rojo/marrón turbio en el pozo, a veces existe la presencia de un borde periférico fino.

Ejemplo: Suero positivo a una dilución de 1:1280



11 – INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Título < 1:160: Reacción no significativa.
Probable ausencia de distomatosis.
Renovar la prueba de 2 a 3 semanas después y también realizar una prueba de electroquimioterapia o inmunoelectroforesis.

Título = 1:160: Reacción dudosa.
Renovar la prueba de 2 a 3 semanas después y también realizar una prueba de electroquimioterapia o inmunoelectroforesis.

Título ≥ 1:320: Reacción significativa a favor de la distomatosis progresiva.

12 – CONTROL DE CALIDAD INTERNO

Los reactivos **CONTROL +** y **CONTROL -** deben tratarse como sueros de prueba. El título del **CONTROL +** reactivo debe ser el mismo que el título impreso en la etiqueta del vial ± una dilución. No debe haber ninguna hemaglutinación del **CONTROL -**. Si hay hemaglutinación, la prueba no es válida.

13 – CAUSAS DE ERROR Y LÍMITES DE PRUEBA

- Mala conservación del suero.
- Mala conservación de los reactivos después de la apertura.
- Utilice únicamente los cuentagotas incluidos en el kit.
- No intercambie los cuentagotas entre los reactivos **R1** y **R2**.
- En el caso de una reacción positiva en los primeros 6 cúpulas, llevar a cabo una dilución en serie adicional para determinar el límite de título de hemaglutinación.
- El control del suero debe dar una reacción negativa (anillo). En caso de hemaglutinación de este control, será necesario renovar la prueba después de haber eliminado las aglutininas antirrobo naturales del suero por adsorción.
- El control del reactivo debe dar una reacción negativa (anillo). En caso de hemaglutinación de este control, no se puede utilizar **ELI.H.A Distoma**.
- Ciertos sueros cuya concentración de anticuerpos es muy alta, pueden dar lugar a un fenómeno de zona (con desaparición de la turbidez) en las diluciones iniciales, que desaparece en las diluciones posteriores.
- La calidad de los reactivos permite realizar la reacción por la noche y leer la prueba a la mañana siguiente, siempre que la microplaca no se mueva de ninguna manera y esté protegida de cualquier fuente de vibración.
- En todos los casos, es necesario que los datos clínicos, epidemiológicos y biológicos se tengan plenamente en cuenta antes de establecer el diagnóstico final.

14 – RENDIMIENTO

ELI.H.A Distoma consiste en glóbulos rojos sensibilizados con un antígeno *Fasciola hepatica*, que asegura la especificidad y sensibilidad de la reacción. La evaluación ha demostrado que la prueba tiene una sensibilidad del 96,1% y una especificidad del 96,6%.

15 – ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

Los residuos deben eliminarse de acuerdo con las normas de higiene y la normativa vigente para este tipo de productos en el país de uso.

Si el reactivo **BUF** se derrama, limpie el área de trabajo con papel absorbente y enjuague con agua. Si se derrama un suero de otro reactivo en el área de trabajo, limpie con lejía y papel absorbente.

16 – BIBLIOGRAFÍA

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, Tomo 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*, Tomo XIII, N° 123, 417/55-60.

Los cambios desde la revisión anterior, están resaltados en gris.

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

