

ELI.H.A Distoma / ELI.H.A Distomu

Distomatozisin serodiagnozu dolaylı hemaglütinasyon

102 Dene
(ref. 66606)

8000150-TR-2025-07

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



1 - AMAC

ELI.H.A Distomu karşı yönlendirilen serum antikorlarının kantitatif olarak belirlenmesini sağlar.
hepatik fasciola dolaylı hemaglütinasyon ile.
Kit, 102 testin veya 6 dilüsyonun 17 reaksiyonunun gerçekleştirilmesine izin verir.

2 - GİRİŞ

Distomatozlar, trematodlar tarafından oluşturulan parazitlerdir ve yetişkinlerin kesin konaktaki konumuna bağlı olarak, aşağıdakiler arasında bir ayırım yapılır:

- Hepatobiliyer Distomatozis
- bağırsak distomatozu
- akciğer dismomatozu

Hepatobiliyer distomatozlar arasında, *Fasciola hepatica* insanlar da dahil olmak üzere kesin konakta bir transperitoneal ve transhepatik larva göçü fazını içeren gelişen bir döngü. Bu parazitozun istila evresi sırasında biyolojik tanısı, esasen antikorların araştırılmasıyla (dışkıda yumurta salınımının olmadığı evre) immünolojiktir. Yumurtalar az miktarda döküldüğü için bu immünolojik tanı durum evresinin başlangıcında da çok önemlidir.

3 - USUL

ELI.HA Distomu indirekt hemaglütinasyon ilkesine dayanır. Duyarlı kırmızı kan hücreleri antijeni ile kaplı koyun kırmızı kan hücrelerinden oluşur. *Hepatik fasciola*.
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 kupulanın dibine yerleşir. Duyarılasmış kırmızı kan hücreleri, reaksiyonun özgüllüğünü sağlar ve doğal anti-koyun aglutininleri (Forssman'ın heteroantikorları, enfeksiyöz mononükleoz antikorları, vb.) tarafından müdahalelerin ortadan kaldırılmasına izin verir.
Reaksiyon, U-şekli bir mikrotitre plakasında gerçekleşir.
İşleme hızlı ve kolaydır. Sonuçlar 2 saat içinde alınır.

4 - REAKTİFLER VE MALZEME

Tanım	Adet
R1 : 2.2 mL duyarlı kırmızı kan hücresi şişesi	1
R2 : 1 mL duyarısız kırmızı kan hücresi şişesi	1
BUF : 55 mL flakon fosfat tamponu pH 7.2	1
R3 : 2 mL adsorban şişesi	1
CONTROL + : 0.2 mL titre edilmiş pozitif kontrol şişesi	1
CONTROL - : 0.2 mL negatif kontrol şişesi.	1
MICROPLATE : U-şekli mikropilaka	2
DROPPER : 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 kullanıldıktan ülkede yürürlükte olan hijyen yönetmeliklerine uygun olarak kullanılmalıdır.
- 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** damlatıcının tamamen dikey olduğundan emin olunmalıdır.
- Verilen hacimlerin sabit olması için damlalarda hava kabarcığı olmadığını kontrol edin.
- Reaktifler sodyum azid içerir (konsantrasyon < % 0.1). Reaktiflerde bulunan sodyum azid, borulardaki ağır metallerle reaksiyona girerek patlayıcı bileşikler oluşturabilir. Bu nedenle reaktifleri lavaboya atmamanız ve yürürlükteki atık bertarafı önerilerine ve yönetmeliklerine uymanız önerilir.

6 - NUMUNELERİN TOPLANMASI VE İŞLENMESİ

-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 MATERYALLER

- 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 uL serum;
• 1,95 mL reaktif **BUF**.

9.2 - Testin mikropilaka üzerinde uygulanması

- Çok kanallı bir mikropipet kullanarak 50 µL reaktif uygulayın **BUF** mikrotitre plakasının 8 kuyusunda.
- Bir mikropipet kullanarak, seyreltilmiş serumdan 50 µL'ı; 1. kuyu.
Reaktif ile karıştırın **BUF** ve tercihen bir mikro-tiner ("lale") kullanarak 1'in 50 µL'sini uygulayın. 2'deki çukur peki, 2'den 3'teki çukur ve böylece 6'ya kadar kuyu, 50 µL 6 içeren iyi atılır.
Bu, 1/80 ila 1/2560 arasında seyreltmelerle sonuçlanır.

- 50 µL seyreltilmiş serumu 7'ye aktarın. kuyu.
Reaktif ile karıştırın **BUF** ve atmak 50 µL uzakta.
Bu seyreltme (1/80), görevi belirli serumların içerebileceği doğal anti-koyun aglutininlerini saptamak olan serum kontrolünü oluşturur.

- Reaktifleri sallayın **R1** ve **R2** kullanmadan önce dikkatli olun.
 - 1 damla reaktif uygulayın **R1** ilk 6 kuyuda.
 - 1 damla reaktif yerleştirin **R2** 7'de iyi (serum kontrolü).
 - 1 damla reaktif uygulayın **R1** 8'de reaktifin geçerliliğini kontrol etmekle görevli kuyu (reaktif kontrolü) **BUF** ve reaktif **R1** kontrol etmek.

Not: Çalışma başına yalnızca bir reaktif kontrolü çalıştırın.

- Kuyuların içeriğini çok dikkatli bir şekilde homojenleştirin:
 - ya elle, düz yerleştirilmiş mikrotitre plakasının kenarlarına vurarak;
 - veya bir mikrotitre plakalı titreşimli karıştırıcı vasıtasıyla (örn. 10 saniye için 1300 rpm).
Yuvarlak bir karıştırıcı kullanmayın.
- Ardından plakayı sabit ve tamamen titreşimsiz bırakın.
- Yanıtı 2 saat sonra okuyun.

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

- Reaktifleri sallayın **R3** dikkatlice.
- Bir tüpe koyun ve karıştırın:
 - 0.1 mL serum;
 - 0.3 mL reaktif **R3**.
- Oda sıcaklığında 60 dakika kuluçkaya bırakın.
- 2000 rpm'de 15 dakika santrifüjleyin.
- Süpernatantı toplayın; serum daha sonra 1/4 oranında seyreltilir.
- Reaktif süpernatantı 1/10 oranında seyreltin **BUF** adsorbe edilmiş bir ana seyreltme (1/40) elde etmek için.
- "Mikrotitre Plakasında Testi Gerçekleştirme" protokolünü tekrarlayın ve ana dilüsyonu adsorbe edilmiş ana dilüsyonla değiştirin.

10 - SONUÇLARIN OKUNMASI

Negatif reaksiyon: Hemaglütinasyon yokluğu.

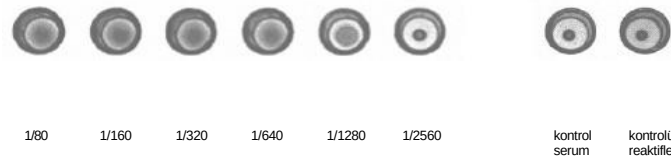
Kuyunun dibinde az çok geniş bir halkanın varlığı.

Olumlu tepki:

Hemaglütinasyon varlığı.

Çukuru örten kırmızı/kahverengi bir örtünün varlığı; ince bir periferik şeridin varlığı.

Örnek: 1/1280'de serum pozitif



11 - SONUÇLARIN YORUMLANMASI

Titre < 1/160: **Önemsiz tepki.**
Muhtemelen distomatozis değildir.
2 ila 3 hafta sonra testi tekrarlayın ve Bir elektrosentez veya immünoelektroforez.

Titre = 1/160: **Güvenilmez yanıt.**
2 ila 3 hafta sonra testi tekrarlayın ve elektrosentez veya immünoelektroforez.

Titre ≥ 1/320: **Progresif distomatozis lehine anlamlı yanıt.**

12 - İÇ KALİTE KONTROLÜ

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

13 - HATALARIN NEDENLERİ VE TESTİN SINIRLAMALARI

- Serumun kötü depolanması.
- Açıldıktan sonra kötü reaktif saklama.
- Yalnızca kitte verilen damlalıkları kullanın.
- Reaktifler arasında damlalıkları değiştirmeyin **R1** ve **R2**.
- İlk 6 kuyucukta reaksiyon pozitifse, sınırlayıcı hemaglütinasyon titresini aramak için seyreltmelerle devam edin.
- Serum kontrolü negatif reaksiyon (halka) vermelidir. Bu kontrolün hemaglütinasyonu durumunda, doğal anti-koyun aglutininleri adsorpsiyon yoluyla serumdan çıkarıldıktan sonra test tekrarlanmalıdır.
- Reaktif kontrolü negatif reaksiyon (halka) vermelidir. Bu kontrolün hemaglütinasyonu durumunda reaktif **ELI.H.A Distomu** kullanılamaz halde.
- Antikor konsantrasyonları çok yüksek olan bazı serumlar, ilk seyreltmelerde bir zon fenomenine (perdenin geri çekilmesiyle) neden olabilir ve sonraki seyreltmelerde kaybolabilir.
- Reaktiflerin kalitesi, mikrotitre plakasının hareket ettirilmemesi ve titreşimden korunması koşuluyla, reaksiyonun aşam gerçekleştirilmesine ve ertesi sabah okunmasına izin verir.
- Her durumda ve kesin tanı konulmadan önce testin yorumlanması, tüm klinik, epidemiyolojik ve biyolojik verilerin ve diğer testlerin sonuçlarının entegrasyonu ile gerçekleştirilmelidir.

14 - PERFORMANSLAR

ELI.H.A Distomu antijeni tarafından duyarlı hale getirilmiş kırmızı kan hücrelerinden oluşur. *Hepatik fasciola*. garanti eder reaksiyon için duyarlılık ve özgüllük.
Böylece test değerlendirmelerinin sonuçları %96,1 duyarlılık ve %96,6 özgüllük göstermektedir.

15 - ATIKLARIN İMHASI

Atıklar, bu tür ürünlerin kullanıldığı ülkede geçerli olan hijyen yönetmeliklerine ve mevzuata uygun olarak bertaraf edilmelidir.
Reaktifin kazara dökülmesi durumunda **BUF**: 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. P. WATTRE, M. CAPRON, A. CAPRON - Le diagnostik immunologique de la distomatoze à *hepatik fasciola* (105 gözlem yoluyla) - *Lille Medikal*, 3^{ème} Seri, 1978, Cilt XXIII, N°5, 292-296.
2. INRA - Fasciolosis Bovine - 1978.
3. K. DELLAGI - La Distomatoze hepatique : anket épidémiologique et étude clinique, biologique et thérapeutique à propos de 50 cas - *Université Pierre et Marie CURIE, Fakülte Medecine Pitié-Salpêtrière*, 1981.
4. B. PESSON, N. LEGER, G. MADULO-LEBLOND - Diagnostic immunologique en parasitologie ve en mycologie - *Le Pharmacien Biologiste*, Cilt XIII, No 123, 417/55-60.

Önceki sürümdeki değişiklikler gri renkle vurgulanır.

ELiTech MICROBIO

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

