

Monoklonale Antikörper anti- *Enterocytozoon bienewsi* und *Encephalitozoon intestinalis*

Gebrauchsanweisung für Produkt N° 8100, N° CE : H-CH/CA01/IVD/12173



Anwendungszweck :

Stuhluntersuchungen für Spezies spezifische Diagnosen von **intestinaler Mikrosporidiose** mit indirektem Immunfluoreszenz Antikörper Assay (IFA).

Kitbestandteile (2 x 50 Tests):

MAB1	8100-01	Monoklonaler Antikörper anti- <i>E. bienewsi</i> gebrauchsfertig (roter Verschluss)	2 x 0.5 ml
MAB2	8100-02	Monoklonaler Antikörper anti- <i>E. intestinalis</i> gebrauchsfertig (grüner Verschluss)	2 x 0.5 ml
CONJ	8100-03	Gebrauchsfertiger Alexa fluor-488 markiertes anti-Maus IgG Konjugat mit Evans- Blau- Farbstoff	1 x 2 ml

Methode :

- Verdünnen Sie die Stuhlprobe in PBS (Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung) im Verhältnis von 1:2 (1 Volumen Stuhlprobe + 2 Volumen PBS).

Filtrieren Sie die Probe mit einem 50 µm (bevorzugt) oder 100 µm Filter.

- Übertragen Sie 2 µl der zu testenden Stuhlsuspension auf einen Objektträger mit Reaktionsfeldern und lassen Sie die Probe für 1 Stunde trocknen.

- Fixieren Sie die Probe mit Methanol und lassen Sie sie erneut trocknen.

- Fügen Sie 20 µl von jeder der beiden Antikörperlösungen in die Reaktionsfelder und inkubieren Sie den Objektträger für 30 min, bei Raumtemperatur, in einer Feuchten Kammer.

- Waschen Sie die Probe, im Anschluss an die Inkubation, drei Mal mit einem Tropfen PBS. Saugen Sie überschüssiges PBS am Rand des Reaktionsfeldes vorsichtig ab.

- Fügen Sie jedem Reaktionsfeld 20 µl des (Ready-to-use) anti-Maus- IgG- Konjugates hinzu und inkubieren Sie die Proben für 30 min im Dunkeln, in einer Feuchten Kammer.

- Saugen Sie das Konjugat vorsichtig ab und waschen Sie die Probe erneut mit einem Tropfen PBS, wie oben beschrieben. Tauchen Sie danach den Objektträger drei Mal in frische PBS.

- Entfernen Sie den PBS- Puffer vorsichtig vom Objektträger ohne dabei die Reaktionsfelder (Probe oder Antigen) zu berühren.

- Betten Sie die Reaktionsfelder in 2 Tropfen Einbettungsmedium (nicht im Kit enthalten) ein und decken Sie diese blasenfrei mit einem Deckglas (24x60 mm) ab.

- Die mikroskopische Auswertung wird mit einem Immunfluoreszenzmikroskop vorgenommen:

Ausgestattet mit einem Filter für Fluoreszein und einem Immersionsobjektiv (x1000).

Nach der Reaktion sind die Objektträger lichtgeschützt mehrere Tage bei +4°C stabil.

Ergebnis :

Um die Spezifität Ihrer Markierung zu beurteilen, setzen Sie gleichzeitig mit der Analyse Ihrer Stuhlproben eine positive und eine negative Kontrolle sowie eine Probe ohne Erstantikörper, geben Sie nur das Konjugat zu Ihrer Probe, an.

Die monoklonalen Antikörper reagieren ausschließlich mit der Sporenhülle von Mikrosporidien.

Die Sporen von *E. bienewsi* (1.3 x 0.7 µm) und *E. intestinalis* (1.7 x 1.0 - 1.1 µm) zeigen eine Fluoreszenzmarkierung über die gesamte Oberfläche, akzentuiert in der Peripherie.

Es werden eine Sensitivität von fast 100% und eine höhere Spezifität gegenüber anderen spezifischen Färbemethoden (Weber and Uvitex 2B) mit monoklonalen Antikörpern und IFA beobachtet.

Referenzen:

Cisse O.A., Ouattara A., Thellier M., Accoceberry I., Biligui S., Minta D., Doumbo O., Desportes-Livage I., Thera M.A., Danis M. and Datry A. Evaluation of an immunofluorescent-antibody test using monoclonal antibodies directed against *Enterocytozoon bienewsi* and *Encephalitozoon intestinalis* for diagnosis of intestinal microsporidiosis in Bamako. J. Clin. Microbiol., 2002, **40** : 1715-1718.

Raccurt C.P., Fouché B., Agnamey P., Menotti J., Chouaki T., Totet A. and Pape J.W. Short report: presence of *Enterocytozoon bienewsi* associated with intestinal coccidia in patients with chronic diarrhea in HIV center in Haiti. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2008, **79** : 579-580.

Hamamci B., Cetinkaya U., Berk V., Kaynar L., Kuk S., Yazar S. Prevalence of *Enterocytozoon bienewsi* and *Encephalitozoon intestinalis* in cancer patients under chemotherapy. Mikrobiyol Bul. 2015, 49 : 105-113.

Cetinkaya U., Hamamci B., Kaynar L., Kuk S., Sahin I., Yazar S. Investigation of the presence of *Enterocytozoon bienewsi* and *Encephalitozoon intestinalis* in bone marrow transplant patients by IFA-MAbs method. Mikrobiyol Bul. 2015, 49 : 432-438.



BORDIER AFFINITY PRODUCTS SA

Chatanerie 2, CH-1023 Crissier, Switzerland. Phone: + 41 21 633 31 67, www.bordier.ch

50906_01 8100 Deu 06.2016

