

Anticorpos monoclonais anti- *Enterocytozoon bienewsi* e *Encephalitozoon intestinalis*

Instruções de utilização referentes ao artigo n.º 8100, n.ºCE: H-CH/CA01/IVD/12173



Utilização prevista:

Exame de rotina às fezes para diagnóstico específico de amostras de **Microsporidia intestinal** por ensaio de anticorpos por imunofluorescência indireta (EIF).

Material incluído no kit (2 x 50 ensaios):

MAB1	8100-01	Anticorpo monoclonal anti- <i>E. bienewsi</i> pronto a utilizar (cápsulas vermelhas)	2 x 0,5 ml
MAB2	8100-02	Anticorpo monoclonal anti- <i>E. intestinalis</i> pronto a utilizar (cápsulas verdes)	2 x 0,5 ml
CONJ	8100-03	Conjugado de IgG antirrato e Alexa Fluor 488, pronto a utilizar e contendo azul de Evans	1 x 2 ml

Método:

- Diluir as fezes com PBS (tampão fosfato salino) (1 volume de fezes + 2 volumes de PBS). Filtrar através de um filtro de 50 µm (de preferência) ou 100 µm.
- Colocar 2 µl da suspensão da amostra fecal a ser testada nas lâminas de poços e deixar secar durante uma hora.
- Fixar as lâminas com metanol e deixar secar.
- Adicionar 20 µl dos anticorpos monoclonais nos poços e incubar durante 30 min. à temperatura ambiente num ambiente húmido.
- Lavar três vezes com uma gota de PBS, aspirando o PBS do lado dos poços.
- Adicionar 20 µl de conjugado pronto a utilizar a cada poço. Incubar durante 30 min. à temperatura ambiente num ambiente húmido, no escuro.
- Aspirar o conjugado e lavar com uma gota de PBS conforme especificado acima. Mergulhar as lâminas em três alterações de PBS.
- Drenar o tampão das lâminas. Secar as lâminas por baixo e em torno das amostras de forma cuidadosa, sem tocar no antígeno.
- Adicionar duas gotas de meio de montagem de fluorescência antidescoloração (não incluído) e colocar uma lamela (24 x 60 mm) nos poços, evitando a formação de bolhas de ar.
- Observar com um microscópio de fluorescência, equipado com o filtro de fluoresceína apropriado e uma objetiva de imersão (x 1000). As lâminas permanecem estáveis durante vários dias a +4 °C no escuro.

Interpretação:

Para avaliar a especificidade da rotulagem, uma amostra positiva e uma negativa, assim como uma amostra sem anticorpo primário (apenas com o conjugado), poderiam ser processadas em paralelo com as amostras de fezes.

Os anticorpos monoclonais reagem exclusivamente com as paredes de esporos de Microsporidia. Os esporos de *E. bienewsi* (1,3 x 0,7 µm) e *E. intestinalis* (1,7 x 1,0 - 1,1 µm) são identificados à superfície com uma fluorescência periférica marcada.

Foi observada uma sensibilidade de quase 100% e uma especificidade melhor do que a observada em métodos de coloração específicos (Weber e Uvitex 2B) utilizando os anticorpos monoclonais e o EIF.

Referências:

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, Suíça. Tel.: + 41 21 633 31 67, www.bordier.ch

