

ELI.H.A *Candida*

Serologischer Candidiasis-Nachweis durch indirekte Hämagglutination

120 Tests
(Ref. 44600)



8000130-DE-2025-07
Für in-vitro-Diagnostik, für den professionellen Einsatz.
Die Änderungen seit der letzten Revision sind grau hinterlegt.

1 – VERWENDUNGSZWECK
ELI.H.A *Candida* ermöglicht die quantitative Bestimmung von anti-*Candida albicans*-Serum-antikörpern durch indirekte Hämagglutination.
Mit jedem Kit können 120 Tests oder 20 Reaktionen mit 6 Verdünnungen durchgeführt werden.

2 –EINLEITUNG
Die Candidose ist eine opportunistische Infektion, die durch hefeartige Pilze der Gattung *Candida* verursacht wird.
Candida albicans ist der am häufigsten isolierte Pilz und auch der pathogenste. Die immunologische Diagnose durch den Nachweis von Antikörpern ist bei Verdacht auf invasive, viszerale oder septikämische *Candida*-Infektionen von großer Bedeutung, wenn der Pilz nicht direkt aus einer klinischen Probe isoliert werden kann.

3 – TESTPRINZIP
ELI.H.A *Candida* basiert auf dem Prinzip der indirekten Hämagglutination. Die sensibilisierten roten Blutkörperchen bestehen aus roten Blutkörperchen von Schafen, die mit einem *Candida albicans* Antigen beschichtet sind.
Das Vorhandensein von anti-*Candida albicans*-Serum-Antikörpern führt zur Agglutination der sensibilisierten Erythrozyten, was zu einem trüben rot-braunen Belag in der Vertiefung führt.
In Abwesenheit spezifischer Antikörper bilden die roten Blutkörperchen eine ringförmige Ablagerung am Boden der Vertiefung.
Die nicht sensibilisierten Erythrozyten gewährleisten die Spezifität der Reaktion, so dass jegliche Störung durch die natürlichen anti-Schaf-Agglutinine (Forssman-Heteroantikörper, infektiöse Mononukleose-Antikörper...) ausgeschlossen werden kann.
Die Reaktion wird in einer U-Mikrotiterplatte durchgeführt.
Die Handhabung ist einfach und schnell, die Ergebnisse liegen innerhalb von 2 Stunden vor.

4 – REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Beschreibung	Menge
R1: Röhrchen mit 2,4 ml sensibilisierten roten Blutkörperchen	1
R2: Röhrchen mit 1,0 ml nicht-sensibilisierten roten Blutkörperchen	1
BUF: Fläschchen mit 55 ml Phosphatpuffer-Lösung; pH 7,2	1
R3: Röhrchen mit 2,0 ml Adsorbens	1
CONTROL +: Röhrchen mit 0,2 ml titrierter Positivkontrolle	1
CONTROL -: Röhrchen mit 0,2 ml Negativkontrolle	1
MICROPLATE: Mikrotiterplatte (u-förmig)	2
DROPPER: Spezial-Dropper	2

5 – WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN
- Die Reagenzien sind nur für die *in-vitro* Diagnostik bestimmt und dürfen nur von autorisiertem Personal gehandhabt werden; die Tests sind nur zum einmaligen Gebrauch bestimmt.
- Alle Reagenzien, mit Ausnahme des **BUF**-Reagenzes, enthalten Rohstoffe tierischen Ursprungs und müssen mit Vorsicht gehandhabt werden.
- Die Patientenproben sind potenziell infektiös. Sie müssen mit Vorsicht und unter Beachtung der Hygienevorschriften und der im jeweiligen Land geltenden Bestimmungen für diese Art von Produkten gehandhabt werden.
- Die Reagenzien enthalten Natriumazid (Konzentration < 0.1%). Das in den Reagenzien enthaltene Natriumazid kann mit den Schwermetallen in den Leitungen reagieren und explosive Verbindungen bilden. Es wird daher empfohlen, die Reagenzien nicht in den Abfluss zu schütten und die geltenden Empfehlungen und Vorschriften zur Abfallentsorgung zu beachten.
- Reagenzien nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Keine Reagenzien unterschiedlicher Chargen verwenden.
- Serum und Reagenzien vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen lassen.
- Reagenzien **R1** und **R2** vor der Verwendung vorsichtig schütteln.
- Beim Dosieren der Reagenzien **R1** und **R2** darauf achten, dass der Tropfer genau senkrecht steht. Darauf achten, dass keine Luftblasen in den Tropfen sind, um ein konstantes Abgabevolumen zu gewährleisten.

6 – PROBENENTNAHME UND PROBENHANDHABUNG
Frisches Serum oder bei -20°C konserviertes Serum verwenden, das keine Anzeichen von Hämolyse, Trübung oder Kontamination aufweist.
Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.

Keine Wärmeverbehandlung (Zersetzung) des Serums durchführen.

7 – STABILITÄT, LAGERUNG UND REAGENZIENVORBEREITUNG
Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.
Alle Reagenzien sind, in der Originalverpackung bei 2-8°C gelagert, bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum haltbar. Nicht einfrieren.

8 – ERFORDERLICHE MATERIALIEN (nicht im Kit enthalten)
- Automatische Pipette(n) mit einem an das zu messende Volumen angepassten Pipettiervolumen;
- Behälter für kontaminierte Abfälle;
- Zentrifuge;
- Hämolyseröhrchen.

9 – TESTDURCHFÜHRUNG
Reagenzien vor der Verwendung auf Raumtemperatur kommen lassen.

9.1 – PROBENVORBEREITUNG
Eine 1:40-Stammverdünnung des zu testenden Serums vornehmen:
• 50 µl Serum;
• 1,95 ml **BUF**.

9.2 – TEST AUF DER MIKROTITERPLATTE
- Mit einer Mehrkanalpipette in 8 Kavitäten der Mikrotiterplatte 50 µl **BUF** pipettieren.

- Mit einer Mikropipette 50 µl verdünntes Serum in die 1. Vertiefung geben.
Das Serum mit dem **BUF**-Reagenz mischen und eine Verdünnungsreihe durchführen, indem 50 µl aus der 1. Vertiefung in die 2., dann 50 µl aus der 2. in die 3. und so weiter bis zur 6. Vertiefung übertragen werden. Danach 50 µl aus der 6. Vertiefung entnehmen und verworfen. Auf diese Weise erhält man in den Vertiefungen 1 bis 6 Verdünnungen von 1:80 bis 1:2560.

- In die 7. Kavität 50 µl der 1:40-Serum-Stammverdünnung pipettieren. Mit dem Puffer (**BUF**) mischen und 50 µl entnehmen und verworfen. Diese 1:80-Verdünnung stellt die Serumkontrolle dar und dient dem Nachweis natürlicher anti-Schaf-Agglutinine, die in manchen Seren vorkommen können.

- **R1** und **R2** vorsichtig schütteln.
• In die ersten 6 Vertiefungen jeweils 1 Tropfen **R1** geben.
• In die 7. Vertiefung 1 Tropfen **R2** geben (Serumkontrolle).
• In die 8. Vertiefung 1 Tropfen **R1** geben (Reagenzkontrolle). Dies dient der Richtigkeitskontrolle von **BUF** und **R1**.

Hinweis: Pro Testserie sollte nur 1 Reagenzkontrolle angesetzt werden.

- Inhalt der Vertiefungen sehr sorgfältig homogenisieren:
• entweder manuell durch seitliches Beklopfen der Mikrotiterplattenränder
• oder mit einem Vibrationsschüttler für Mikrotiterplatten (z.B. bei 1300 U/min für 10s)
Keine Schüttler mit kreisförmigen Bewegungen (Orbital-, Kreisschüttler) einsetzen.

- Dann die Platte nicht mehr bewegen und frei von Vibrationen stehen lassen.
- 2 Stunden später das Reaktionsergebnis ablesen.

9.3 – Adsorption natürlicher anti-Schaf-Agglutinine im Falle einer Agglutination der Serumkontrolle

- **R3**-Reagenz vorsichtig schütteln.
- Folgendes in ein Röhrchen geben und mischen:
• 0,1 ml Serum
• 0,3 ml **R3**
- 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren..
- Bei 2000 U/min für 15 Minuten zentrifugieren.
- Flüssigen Überstand abnehmen; das Serum ist nun 1:4 verdünnt.
- Den Überstand mit **BUF** 1:10 verdünnen, um die adsorbierte 1:40-Stammverdünnung zu erhalten.
- Statt der Stammverdünnung wird diese adsorbierte Stammverdünnung als Testserum eingesetzt und der Test gemäß Anleitung Punkt 9.2 "Test auf Mikrotiterplatte" weitergeführt.

10 – BEOBACHTUNG / ABLESEN DER REAKTION

Negative Reaktion: Keine Hämagglutination.
Auf dem Boden der Vertiefung ist ein mehr oder weniger breiter Ring zu sehen.

Positive Reaktion: Hämagglutination.
Anwesenheit eines rötlich-braunen Belags auf dem Boden der Kavität; manchmal zeigt sich auch ein dünner peripherer Ring.

Beispiel einer mit einem 1:1280 positiven Serum erzielten Hämagglutination:



11 – INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Titer < 1:160: Nicht signifikante Reaktion auf eine fortschreitende Infektion.
Test nach 2 bis 3 Wochen wiederholen und zusätzlich eine Gegenstrom-elektrophorese oder Immunelektrophorese durchführen.

Titer = 1:160: Mehrdeutige Reaktion.
Möglichkeit einer fortschreitenden Candidose. Die Ergebnisse müssen unter Berücksichtigung des gesamten klinischen Bildes interpretiert werden. Test nach 2 bis 3 Wochen wiederholen und zusätzlich eine Gegenstromelektrophorese oder Immunelektrophorese durchführen.

Titer ≥ 1:320: Signifikante Reaktion auf eine progressive Candidose.

12 – INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE
CONTROL + und **CONTROL -** sind wie Patientenproben zu behandeln. Der Titer des Reagenz **CONTROL +** muss mit dem auf dem Fläschchenetikett aufgedruckten Titer ± eine Verdünnung übereinstimmen. **CONTROL -** darf keine Hämagglutination aufweisen. Liegt eine Hämagglutination vor, so ist der Test ungültig.

13 – FEHLERURSACHEN UND GRENZEN DER METHODE
- Schlechte Konservierung des Serums.
- Schlechte Konservierung der Reagenzien nach dem Öffnen.
- Nur die im Kit enthaltenen Dropper verwenden.
- Die Dropper dürfen nicht zwischen den Reagenzien **R1** und **R2** ausgetauscht werden.
- Bei positiver Reaktion in den ersten 6 Vertiefungen ist eine weitere Verdünnungsreihe durchzuführen, um die Titergrenze der Hämagglutination zu bestimmen.
- Die Serumkontrolle muss eine negative Reaktion zeigen (Ring). Im Falle einer Hämagglutination dieser Kontrolle muss der Test wiederholt werden, nachdem die natürlichen Anti-Schaf-Agglutinine durch Adsorption aus dem Serum entfernt wurden.
- Die Reagenzkontrolle muss eine negative Reaktion zeigen (Ring). Im Falle einer Hämagglutination dieser Kontrolle kann der **ELI.H.A *Candida*** nicht verwendet werden.
- Seren, deren Antikörperkonzentration sehr hoch ist, können in den ersten Verdünnungen ein Zonenphänomen (mit Verschwinden der Trübung) hervorrufen, das in den nachfolgenden Verdünnungen wieder verschwindet.
- Die Qualität der Reagenzien ermöglicht es, die Reaktion am Abend durchzuführen und den Test am nächsten Morgen abzulesen, vorausgesetzt, die Mikrotiterplatte wird in keiner Weise bewegt und vor Erschütterungen geschützt.
- In allen Fällen müssen die klinischen, epidemiologischen und biologischen Daten vollständig berücksichtigt werden, bevor die endgültige Diagnose gestellt wird.

14 – LEISTUNGSDATEN
ELI.H.A *Candida* besteht aus roten Blutkörperchen, die durch ein *Candida albicans*-Antigen sensibilisiert sind, das die Spezifität und Empfindlichkeit der Reaktion gewährleistet.
Die Auswertung hat gezeigt, dass der Test eine Sensitivität von 85,4% und eine Spezifität von 97,9% aufweist.

15 – ABFALLBESEITIGUNG
Die Abfälle sollten gemäß den Hygienevorschriften und den geltenden Bestimmungen für diese Art von Produkten im Land der Verwendung entsorgt werden.
Wenn das **BUF**-Reagenz verschüttet wird, den Arbeitsbereich mit saugfähigem Papier reinigen und mit Wasser abspülen.
Wenn ein Serum oder ein anderes Reagenz auf dem Arbeitsbereich verschüttet wird, diesen mit Bleichmittel und saugfähigem Papier reinigen.

16 – LITERATUR
1- J. PARIS, A. CAPRON, A. VERNES, J.-C. PARIS, S. ANDRIEU - Apport de l'immunologie à l'étude des candidoses digestives - *Arch. Fr. Mal. App. Dig.*, 1973, 62, 309-313.
2- P. WATTRE, J.-C. DUGIMONT, A. CAPRON - Progrès récents dans le diagnostic immunologique des candidoses humaines - *Bull. Soc. Myc. Méd.*, 1975, IV, n° 2, 155-158.
3- H. ZOUAGHI, M. GAUTHIER - Diagnostic immunologique des candidoses - *Feuil. Biol.*, 1980, XXI, 112,59-65.
4- P. WATTRE, A. DEWILDE, D. DURIEZ - Diagnostic immunologique des candidoses : étude critique à propos de 123 observations. Perspectives d'avenir - *Méd. Mal. Inf.*, 1984, 14(5), 308-313.
5- P. CANTON, B. DUPONT, T. MAY - Nouveaux aspects des candidoses systémiques - *Méd. Mal. Inf.*, 1984, 14(11), 582-588.

Die Änderungen seit der letzten Revision sind grau hinterlegt.



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