

# ELI.H.A *Candida*

## Serodiagnose van candidiasis door indirecte hemagglutinatie

120 testen  
(Ref. 44600)

8000130-DU-2012-06

Alleen voor diagnostisch gebruik *in vitro*, alleen voor professioneel gebruik.  
Tests voor eenmalig gebruik.



### 1 - DOEL

ELI.H.A *Candida* maakt de kwantitatieve bepaling mogelijk van serumantlichamen gericht tegen *Candida albicans* door indirecte hemagglutinatie.

Met de kit kunnen 120 testen of 20 reacties van 6 verduunningen worden uitgevoerd.

### 2 - INLEIDING

Candidiasis is een opportunistische infectie veroorzaakt door een gistschimmel van het geslacht *Candida*.

*Candida albicans* is de meest geïsoleerde en pathogene gist.

De immunologische diagnose door antilichamen vertoont een groot belang in vermoede invasieve, viscerale of septicemische candidiasis, wanneer de schimmel niet direct uit een monster kan worden ontdekt.

### 3 - PRINCIPE

ELI.H.A *Candida* is gebaseerd op het principe van indirecte hemagglutinatie. De gesensibiliseerde rode bloedcellen bestaan uit rode bloedcellen van schapen bedekt met een antigeen *Candida albicans*.

De aanwezigheid van serumantlichamen tegen *Candida albicans* zorgt ervoor dat gesensibiliseerde rode bloedcellen samenklonteren, wat resulteert in een rood/bruine sluiër die de cupula bedekt. Bij gebrek aan specifieke antilichamen bezinken deze rode bloedcellen op de bodem van de cupula in de vorm van een ring.

De niet-gesensibiliseerde rode bloedcellen zorgen voor de specificiteit van de reactie en maken de eliminatie mogelijk van de interferenties door natuurlijke antischaap-agglutinenen (Forssmans hetero-antilichamen, antilichamen van infectieuze mononucleose, etc.).

De reactie vindt plaats in een U-vormige microtiterplaat.

De hantering is snel en eenvoudig. Resultaten worden verkregen in 2 uur.

### 4 - REAGENTIA EN MATERIAAL

Beschrijving	Aantal
R1 : flacon van 2,4 mL met gesensibiliseerde rode bloedcellen	1
R2 : flacon van 1 mL met niet-gesensibiliseerde rode bloedcellen	1
BUF: flacon van 55 mL fosfaatbuffer pH 7,2	1
R3 : flacon van 2 mL adsorbens	1
CONTROL +: flacon van 0,2 mL van getitreerde positieve controle	1
CONTROL -: flacon van 0,2 mL van negatieve controle.	1
MICROPLATE: U-vormige microtiterplaat	2
DROPPER: speciale druppelaar	2

### 5 - VOORZORGEN BIJ GEBRUIK

- Reagentia zijn alleen bedoeld voor *in-vitro*-diagnose en dienen door geautoriseerd personeel te worden gehanteerd. De testen zijn voor eenmalig gebruik.
- Alle reagentia, behalve het reagens BUF, bevatten stoffen van dierlijke oorsprong en dienen voorzichtig te worden gehanteerd.
- De monstermengingen zijn potentieel besmettelijk. Ze moeten worden gehanteerd met de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen en met inachtneming van de in het land van gebruik geldende hygiënevoorschriften.
- CONTROL -flacons bevatten natriumazide (< 0,1%).
- Gebruik reagentia niet langer dan de vervaldatum.
- Gebruik geen reagentia of controles uit verschillende batches.
- Wacht tot het serum en de reagentia op kamertemperatuur komen.
- Schud de reagentia R1 en R2 voorzichtig vóór gebruik.
- Bij het toedienen van reagentia R1 en R2 moet ervoor worden gezorgd dat de druppelaar perfect verticaal staat. Controleer of er geen luchtbellen in de druppels zitten, zodat de geleverde volumes constant zijn.

### 6 - VERZAMELING EN VERWERKING VAN MONSTERS

Gebruik verse serums of serums die bij -20 °C bewaard worden en die geen troebele hemolyse of verontreiniging vertonen.

Voorkom herhaaldelijk invriezen en ontdooien.

Het serum nooit decomplementeren.

### 7 - OPSLAG EN BEREIDING VAN REAGENTIA

De reagentia zijn klaar voor gebruik.

Alle reagentia die bij 2-8 °C worden bewaard, zijn stabiel tot de op de verpakking vermelde uiterste gebruiksdatum. Zij mogen niet worden bevroren.

### 8 - BENODIGD, MAAR NIET MEEGELEVERD MATERIAAL

- Automatische pipet(ten) met een aan de te meten hoeveelheid aangepast pipetteringsvolume;
- Containers voor verontreinigd afvalmateriaal;
- een centrifuge;
- Hemolysebuisjes.

### 9 - WERKWIJZE

Laat reagentia vóór gebruik op kamertemperatuur komen.

#### 9.1 - Voorbereiding van het monster

Verdun het te testen serum tot 1/40:

- 50 µL serum;
- 1,95 mL van reagens BUF.

#### 9.2 - Uitvoering van de test op microtiterplaat

- Breng met behulp van een meerkanale micropipet 50 mL reagens BUF in 8 putjes van de microtiterplaat.
- Breng met behulp van een micropipet 50 µL van het verdunde serum in het 1<sup>o</sup> putje. Meng met het reagens BUF en breng, bij voorkeur met behulp van een microverdunner ("tulp"), 50 µL van het 1<sup>o</sup> putje in het 2<sup>o</sup> putje, van het 2<sup>o</sup> putje in het 3<sup>o</sup>, en ga zo maar door tot het 6<sup>o</sup> putje, waarbij 50 µL van het 6<sup>o</sup> putje wordt weggegooid. Dat resulteert in verduunningen van 1/80 tot 1/2560.
- Breng 50 µL van het verdunde serum over in het 7<sup>o</sup> putje. Meng met het reagens BUF en gooi 50 µL weg. Deze verduunning (1/80) vormt de serumcontrole die tot taak heeft de natuurlijke antischaapagglutinenen die bepaalde serums kunnen bevatten, op te sporen.
- Schud de reagentia R1 en R2 voorzichtig.
  - Breng 1 druppel reagens R1 in de eerste 6 putjes.
  - Plaats 1 druppel reagens R2 in het 7<sup>o</sup> putje (serumcontrole).
  - Breng 1 druppel reagens R1 in het 8<sup>o</sup> putje (reagentiacontrole) die tot taak heeft de validiteit van het reagens BUF en het reagens R1 te controleren.

Opmerking: voer slechts één reagentiacontrole uit per testreeks.

- Homogeniseer de inhoud van de putjes zeer zorgvuldig:
  - ofwel met de hand, door te tikken op de zijkanten van de plaat gepositioneerde microtiterplaat;
  - ofwel door middel van een trilroeder voor microtiterplaten (bijvoorbeeld 1300 omw/min gedurende 10 seconden). Gebruik geen ronde roeder.
- Laat de plaat vervolgens onbeweeglijk en volledig trillingsvrij liggen.
- Lees de reactie 2 uur later.

#### 9.3 - Adsorptie van natuurlijke antischaapagglutinenen in geval van agglutinatie van de serumcontrole

- Schud het reagens R3 voorzichtig.
- Plaats het in een buisje en meng het:
  - 0,1 mL serum;
  - 0,3 mL reagens R3.
- Laat 60 min incuberen bij kamertemperatuur.
- Centrifugeer bij 2000 omw/min gedurende 15 min.
- Verzamel het supernatant; het serum wordt vervolgens verdund tot 1/4.
- Verdun het supernatant tot 1/10 in reagens BUF om een geadsorbeerde moederverduunning (1/40) te verkrijgen.
- Herhaal het protocol van "Uitvoering van de test op microtiterplaat" en vervang de moederverduunning door de geadsorbeerde moederverduunning.

### 10 - AFLEZING

#### Negatieve reactie:

Afwezigheid van hemagglutinatie.

Aanwezigheid van een min of meer brede ring aan de onderkant van het putje.

#### Positieve reactie:

Aanwezigheid van hemagglutinatie.

Aanwezigheid van een rode/bruine sluiër die het putje bedekt; aanwezigheid van een dunne perifere strook.

Voorbeeld: serum positief op 1/1280



### 11 - INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

Titer < 1/160:

niet-aanzienlijke reactie van een progressieve infectie.

Herhaal de test 2 tot 3 weken later en gebruik elektrosynthese of een immuno-elektroforese.

Titer = 1/160:

Onbetrouwbare reactie.

Mogelijkheid van progressieve candidiasis te interpreteren in functie van de klinische context. Herhaal de test 2 tot 3 weken later en gebruik elektrosynthese of een immuno-elektroforese.

Titer > 1/320:

aanzienlijke reactie ten voordele van progressieve candidiasis.

### 12 - INTERNE KWALITEITSCONTROLE

De reagentia CONTROL+ en CONTROL- moeten tijdens de analyse als serums worden behandeld. De titer van het reagens CONTROL+ moet gelijk zijn aan de titer vermeld op het etiket van de flacon bij ± een verduunning. Het reagens CONTROL moet een afwezigheid van hemagglutinatie vertonen. Als dat niet het geval is, is de test niet geldig.

### 13 - OORZAKEN VAN FOUTEN EN BEPERKINGEN VAN DE TEST

- Slechte opslag van het serum.
- Slechte opslag van reagentia na opening.
- Gebruik alleen de meegeleverde druppelaars in de kit.
- Wissel de druppelaars niet uit tussen de reagentia R1 en R2.
- Bij een positieve reactie in de eerste 6 putjes, dient u verder te gaan met de verduunningen om te zoeken naar de limiethemagglutinatietiter.
- De serumcontrole moet een negatieve reactie geven (ring). In geval van hemagglutinatie van deze controle moet de test worden herhaald nadat de natuurlijke antischaapagglutinenen door adsorptie uit het serum zijn verwijderd.
- De reagentiacontrole moet een negatieve reactie geven (ring). In geval van hemagglutinatie van deze controle, is het reagens ELI.H.A *Candida* niet bruikbaar.
- Sommige serums, waarvan de concentratie van antilichamen zeer hoog is, kunnen bij de eerste verduunningen een zonfenomeen (met retractie van de sluiër) veroorzaken, dat bij de volgende verduunningen verdwijnt.
- De kwaliteit van de reagentia maakt het mogelijk om de reactie 's avonds uit te voeren en de aflezing de volgende ochtend, op voorwaarde dat de microtiterplaat niet wordt verplaatst en tegen trillingen wordt beschermd.
- In alle gevallen, en voordat de definitieve diagnose wordt gesteld, moet de interpretatie van de test worden gerealiseerd met de integratie van alle klinische, epidemiologische en biologische gegevens en de resultaten van andere tests.

### 14 - PRESTATIES

ELI.H.A *Candida* bestaat uit rode bloedcellen gesensibiliseerd door een antigeen *Candida albicans*. Dat garandeert gevoeligheid en specificiteit voor de reactie.

Zo tonen de resultaten van de testevaluaties een sensitiviteit van 85,4% en een specificiteit van 97,9%.

### 15 - AFVALVERWIJDERING

Afval dient te worden afgevoerd in overeenstemming met de in het land van gebruik voor dit type product geldende hygiënevoorschriften en wetgeving. In geval van accidenteel morsen van reagens BUF: het werkoppervlak reinigen met absorberend papier en spoelen met water. Als er serum of een ander reagens gemorst wordt: reinigen met bleekmiddel en absorberend papier.

### 16 - BIBLIOGRAFIE

- 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.
- 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.
- H. ZOUAGHI, M. GAUTHIER - Diagnostic immunologique des candidoses - *Feuil. Biol.*, 1980, XXI, 112-59-65.
- 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.
- P. CANTON, B. DUPONT, T. MAY - Nouveaux aspects des candidoses systémiques - *Méd. Mal. Inf.*, 1984, 14 (11), 582-588.

De wijzigingen ten opzichte van de vorige versie zijn grijs gemarkeerd.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau  
allée d'Athènes  
83870 SIGNES  
FRANCE  
☎ 33 (0)4 94 88 55 00  
Fax.: 33 (0)4 94 32 82 61  
http://www.elitechgroup.com

