

# ELI.H.A Candida

## Sierodiagnosi di candidosi tramite emoaagglutinazione indiretta

120 Tests  
(Ref. 44600)

8000130-IT-2012-06

Per uso diagnostico *in vitro*, solo per uso professionale.



### 1 - SCOPO

**ELI.HA Candida** consente la determinazione de quantitativa degli anticorpi anti-*Candida albicans* in campioni di siero tramite emoaagglutinazione indiretta.

Il kit consente di eseguire 120 test o 20 reazioni di 6 diluizioni.

### 2 - INTRODUZIONE

Le candidosi sono infezioni opportunistiche causate da un fungo simile a un lievito del genere *Candida*. *Candida albicans* è il lievito più frequentemente isolato e più patogeno.

La diagnosi immunologica mediante la ricerca sugli anticorpi è di grande interesse sospetti di candidosi invasiva, viscerale o settica, quando il fungo non può essere dimostrato direttamente da un campione.

### 3 - PRINCIPIO

**ELI.HA Candida** si basa su emoaagglutinazione indiretta. Eritrociti sensibilizzati sono composti di eritrociti di pecora rivestiti con un antigene endogeno *Candida albicans* solubile.

La presenza degli anticorpi anti-*Candida albicans* in campioni di siero è rivelata da un'agglutinazione dei eritrociti sensibilizzati: una pellicola rossicia-marrone nel pozzetto. In assenza degli anticorpi specifici, questi eritrociti si depositano e formano un anello sul fondo del pozzetto. Eritrociti non sensibilizzati, assicura la specificità della reazione e permette l'eliminazione di interferenze dovute alle agglutinine anti-pecora naturali (eteroanticorpi di Forssman, anticorpi della mononucleosi infettiva...).

La reazione viene effettuata in micropiastra a U.

L'esecuzione del test è semplice e rapida. I risultati si ottengono in 2 ore.

### 4 - CONTENUTO DELLA CONFEZIONE

Descrizione	Quantità
<b>R1:</b> Fiala di 2,4 mL dei eritrociti sensibilizzati	1
<b>R2:</b> Fiala di 1 mL dei eritrociti non sensibilizzati	1
<b>BUF:</b> Fiala di 55 mL di soluzione tampone fosfato pH 7,2	1
<b>R3:</b> Fiala di 2 mL di sostanza assorbente	1
<b>CONTROL +:</b> Fiala di 0,2 mL di controllo positivo titolato	1
<b>CONTROL -:</b> Fiala di 0,2 mL di controllo negativo	1
<b>MICROPLATE:</b> Micropiastre a U	2
<b>DROPPER:</b> Contagocce speciali	2

### 5 - AVVERTIMENTI E PRECAUZIONI

- Solo per uso diagnostico *in vitro*, solo per uso professionale

- I test sono intesi per uso singolo.

- Tutti i reagenti, eccetto di reagente **BUF**, contengono materiale di origine animale. Conseguentemente, devono essere manipolati come componenti pericolosi.

- I campioni sono potenzialmente infettivi. Devono essere maneggiati con le consuete precauzioni, nel rispetto delle norme igieniche e le normative vigenti nel paese di utilizzo.

- Le fiale **CONTROL** contengono sodio azide (con una contrazione inferiore allo 0,1% p/p).

- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.

- Non scambiare reagenti e controlli provenienti da lotti diversi.

- Lasciare tornare a temperatura ambiente i reagenti e i campioni prima di effettuare il test.

- Agitare con cautela i reagenti **R1** e **R2** prima dell'uso.

- Quando si versano i reagenti **R1** e **R2**, accertarsi che l'ago del contagocce sia perfettamente verticale. Verificare che non vi siano bolle d'aria nelle gocce per assicurare volumi di erogazione costanti.

### 6 - PRELIEVO/PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

Utilizzare sieri freschi o sieri conservati a -20°C. Non usare siero emolizzato, torbido o contaminato.

Evitare il congelamento e lo scongelamento ripetuti.

Non decompilare il siero.

### 7 - MODALITÀ DI CONSERVAZIONE

I reagenti sono pronti per l'uso. Conservare a +2°...+8°C, fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Non congelare.

### 8 - MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

- Pipetta/e automatica/e con volume di pipettaggio adattato alla quantità da misurare
- Contenitore per rifiuti contaminate
- Centrifuga
- Tubi per emolisi

### 9 - ESECUZIONE DEL TEST

Prima dell'uso, lasciare che i reagenti e i campioni tornino a temperatura ambiente.

#### 9.1 - Preparazione di diluizione stock 1/40 di siero test

Diluire il siero da testare a 1/40:

- 50 µL di siero;
- 1,95 mL di reagente **BUF**.

#### 9.2 - Esecuzione del test su micropiastra

- Tramite una micropipetta multicanale, versare 50 µL di reagente **BUF** in 8 pozzetti della micropiastra.

- Tramite una micropipetta, aggiungere 50 µL di diluizione stock di siero nel primo pozzetto. Mescolare con il reagente **BUF** e trasferire, preferibilmente tramite un microdiluitore, 50 µL dal primo pozzetto nel secondo pozzetto, dal secondo pozzetto al terzo, e così via fino al sesto pozzetto. Scartare 50 µL dal sesto pozzetto. Otteniamo così le diluizioni da 1/80 fino a 1/2560.

- Aggiungere 50 µL di diluizione stock di siero nell'settimo pozzetto.

Miscelare con il reagente **BUF** e scartare 50 µL.

Questa diluizione 1/80 costituisce il controllo del siero e serve per il rilevamento di agglutinine anti-pecora naturali, che possono verificarsi in alcuni sieri.

- Agitare con cautela le reagenti **R1** e **R2**.

- Distribuire una goccia di reagente **R1** nei primi sei pozzetti.
- Distribuire una goccia di reagente **R2** nella settima pozzetto (controllo del siero).
- Distribuire una goccia di reagente **R1** in otava pozzetto (controllo del reagente). La sua funzione è quella di controllare la validità del reagente **BUF** e del reagente **R1**.

Nota : Predisporre solo un controllo del reagente per serie di saggi.

- Con molta cautela, omogeneizzare il contenuto dei pozzetti :

- Manualmente, dando leggeri colpi ai lati della micropiastra, posizionata di piatto
- O con un vibratore-agitatore per micropiastre (ad esempio 1300 giri/min per 10 secondi). Non utilizzare agitatore orbitale.

- Poi lasciare ferma la piastra, lontano da vibrazioni.

- Leggere la reazione due ore dopo.

#### 9.3 - Assorbimento delle agglutinine anti-pecora naturali in caso di agglutinazione del controllo del siero

- Agitare con cautela il reagente **R3**.

- Introducere in un tubo e mescolare :

- 0,1 mL di siero test ;
- 0,3 mL di reagente **R3**.

- Incubare per 60 min a temperatura ambiente.

- Centrifugare a 2000 giri/min per 15 min.

- Raccogliere il fluido supernatante ; il siero quindi è diluito 1/4.

- Diluire il fluido supernatante 1/10 con il reagente **BUF** per ottenere una soluzione stock adsorbita (1/40).

- Seguire il protocollo di "Esecuzione del test su micropiastra" sostituendo la diluizione stock con la soluzione stock adsorbita.

### 10 - LETTURA DEI RISULTATI

**Reazione negativa: No emoaagglutinazione**

Presenza di sul fondo del pozzetto. un anello piu o meno ampia

**Reazione positiva: Emoagglutinazione**

Presenza di una pellicola rossicia-marrone nel pozzetto : talvolta, la presenza di un anello periferico sottile

Esempio: siero positivo a 1/1280



### 11 - INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

**Titolo < 1/160:**

**Reazione non significativo di una infezione acuta.**

Ripetere la prova di 2 o 3 settimane più tardi e associare una electrosyneresis o un immunoelettroforesi.

**Titolo = 1/160:**

**Reazione equivoco.**

Possibilita di candidiasi acuta di interpretare secondo i risultati clinici. Ripetere la prova di 2 o 3 settimane piu tardi e associare una electrosyneresis o un immunoelettroforesi.

**Titolo ≥ 1/320:**

**Reazione significativo a favore di una candidosi.**

### 12 - CONTROLLO DELLA QUALITÀ INTERNO

Ogni kit include **CONTROL -** e **CONTROL +** titolati, pronti all'uso e da eseguire come i campioni. Questi controlli convalidano il test. Il titolo del **CONTROL +** deve essere pari a ± una diluizione rispetto a quella indicata sull'etichetta della fiala. Non deve essere riscontrata emoaagglutinazione con il **CONTROL -**. Altrimenti il test non è valido.

### 13 - CAUSE DI ERRORE E LIMITAZIONI DEL TEST

- Cattiva conservazione del siero.
- Cattiva conservazione dei reagenti dopo l'apertura.
- Utilizzare esclusivamente i contagocce forniti nel kit.
- Non scambiare i contagocce tra reagenti **R1** e **R2**.
- In caso di reazione positiva nei primi sei pozzetti, effettuare diluizioni più elevate per determinare il titolo di emoaagglutinazione limite.
- Il controllo del siero deve dare una reazione negativa (anello). In caso di emoaagglutinazione di questo controllo, è necessario ripetere il test dopo l'eliminazione delle agglutinine anti-pecora naturali tramite assorbimento.
- Il controllo del reagente deve dare una reazione negativa (anello). In caso di emoaagglutinazione di questo controllo, il reagente **ELI.HA Candida** non potrebbe essere usato.
- Alcuni sieri, con un titolo anticorpale molto elevato, possono causare un fenomeno di zona (con retrazione della pellicola) alle prime diluizioni, che scompare con diluizioni crescenti.
- La qualita dei reagenti permette l'effettuazione della reazione di sera, con lettura la mattina successiva, purché la micropiastra rimanga immobile e protetta da vibrazioni.
- In qualsiasi caso, la diagnosi dovrebbe essere avanzata usando i risultati di questo test insieme agli altri riscontri clinici, epidemiologici e di laboratorio.

### 14 - PRESTAZIONI DEL KIT

**ELI.HA Candida** è composto dei eritrociti sensibilizzati da un antigene *Candida albicans* che assicura sensibilità e specificità per la reazione.

Quindi, i risultati delle valutazioni di **ELI.HA Candida** mostrano una sensibilità del 85,4 % e una specificità del 97,9 %.

### 15 - SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

I campioni, i reagenti e i materiali e i prodotti contaminati devono essere smaltiti in un contenitore apposito per i rifiuti contaminati, in conformità alle raccomandazioni e norme vigenti per questa tipologia di prodotto nel paese di utilizzo. In caso di versamento accidentale di reagente **BUF**, pulire la superficie con carta assorbente e acqua. In caso di versamento di siero o di un altro reagente, pulire la superficie con carta assorbente, acqua e candeggina.

### 16 - REFERENZE

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

I cambiamenti rispetto alla versione precedente sono evidenziate in grigio.

**ELITech MICROBIO**

Parc d'activités du Plateau

allée d'Athènes

83870 SIGNES

FRANCE

Tel: +33 (0) 4 94 88 55 00

Fax: +33 (0) 4 94 32 82 61

http://www.elitechgroup.com

