

ELI.HA *Candida*

Serodiagnosisul candidozei de către hemaglutinare indirectă

120 teste.
(Ref. 44600)

8000130-RO-2012-06

Pentru diagnosticul *in vitro*, numai pentru uz profesional.
Teste de unică folosință.



1 - BUT

ELI.HA *Candida* permite determinarea cantitativă a anticorpilor serici îndreptate împotriva acestora *Candida albicans* prin hemaglutinare indirectă.

Setul face posibilă efectuarea a 120 de teste sau 20 de reacții de 6 diluții.

2 - INTRODUCERE

Candidozele sunt infecții oportuniste cauzate de o ciupercă levuliformă a genului *Candida*. *Candida albicans* este drojdia cea mai frecvent izolată și cea mai patogenă. Diagnosticul imunologic prin cercetarea anticorpilor este de mare interes în suspiciunile de candidoză invazivă, viscerală sau septicemică, atunci când ciuperca nu poate fi detectată direct dintr-o probă.

3 - PRINCIPIU

ELI.HA *Candida* se bazează pe principiul hemaglutinării indirecte. Celule roșii din sânge sensibilizate sunt celulele roșii de oaie acoperite cu antigen *Candida albicans*. Prezența anti-*Candida albicans* serică duce la aglutinarea celulelor roșii sensibilizate, ceea ce duce la un voal roșu/maron care acoperă godeul. În absența anticorpilor specifici, aceste celule roșii se sedimentează în partea inferioară a godeului sub forma unui inel. Celulele roșii de sânge nesensibilizate asigură specificitatea reacției și permit eliminarea interferențelor datorate aglutininelor naturale împotriva oilor (heteroanticorpi Forssman, anticorpi mononucleoză infecțioasă etc.).

Reacția se efectuează într-o microplacă cu fund U.

Manipularea este simplă și rapidă. Rezultatele sunt obținute în 2 ore.

4 - REACTIVI ȘI ECHIPAMENTE

Descriere	Cantitate
R1 : sticlă de 2,4 mL de celule roșii sensibilizate din sânge	1
R2 : sticlă de 1 mL de celule roșii sanguine nesensibilizate	1
BUF : sticlă de 55 mL de tampon fosfat cu pH 7,2	1
R3 : sticlă de adsorbant de 2 mL	1
CONTROL + : Soluție de 0,2 mL de control pozitiv	1
CONTROL - : sticlă de 0,2 mL de control negativ	1
MICROPLACĂ : microplăci în formă de U	2
PICURĂTOR : picurător special	2

5 - PRECAUTII DE UTILIZARE

- Reactivii sunt destinați doar diagnosticului *in vitro* și trebuie manipulați de persoane autorizate. Testele sunt numai pentru o singură utilizare.
- Toți reactivii, cu excepția reactivului **BUF**, conțin substanțe de origine animală și trebuie manipulați cu precauțiile obișnuite.
- Probele sunt potențial infecțioase. Acestea trebuie manipulate cu precauțiile obișnuite, în conformitate cu normele de igienă și cu reglementările în vigoare în țara de utilizare.
- flacoane **CONTROL** conțin azidă de sodiu (<0,1%).
- Nu utilizați reactivi după data de expirare.
- Nu utilizați reactivi sau controale din diferite loturi.
- Așteptați până când serul și reactivii sunt echilibrați la temperatura camerei.
- Agitați bine reactivii **R1** și **R2** înainte de utilizare.
- La distribuirea reactivilor **R1** și **R2**, asigurați-vă că picurătorul este perfect vertical. Verificați să nu există bule de aer în picături, astfel încât volumele livrate să fie constante.

6 - COLECTAREA ȘI PROCESAREA PROBELOR

Utilizați seruri proaspete sau conservate la -20 °C, fără hemoliză de murdărie sau contaminare.

Evitați înghețarea și dezghețarea repetată.

Nu descompuneți serul.

7 - CONSERVAREA ȘI PREGĂTIREA REACTIVILOR

Reactivii sunt gata de utilizare.

Toți reactivii păstrați la 2-8 °C sunt stabili până la data de expirare indicată pe set. Nu trebuie congelate.

8 - MATERIALE NECESARE, DAR NU FURNIZATE

- Pipete automate cu volum de pipetare adaptat la cantitatea care trebuie măsurată;
- Containere pentru deșeuri contaminate;
- Centrifugă;
- Tuburi de hemoliză.

9 - PROCEDURĂ

Echilibrați reactivii la temperatura camerei înainte de utilizare.

9.1 - Pregătirea esanționului

Se diluează serul de testat la 1/40:

- 50 µL de ser;
- 1,95 mL de reactiv **BUF**.

9.2 - Efectuarea testului cu microplăci

- Folosind o micropipetă multi-canal, se distribuie 50 µL de reactiv **BUF** în 8 godeuri ale microplăcii.

- Folosind o micropipetă, se distribuie 50 µL de ser diluat în 1st godeu.

Se amestecă cu reactiv **BUF** și se transferă, de preferință, folosind un micro-diluant ("lalea"), 50 µL din compusul 1st godeu în al 2^{lea}, de la al 2^{lea} în al 3^{lea}, și așa mai departe până la al 6^{lea} godeu, respingând 50 µL din cele 6^{lea} godeu. Sunt astfel obținute diluțiile de la 1/80 până la 1/2560.

- Distribuți 50 µL de ser diluat în al 7^{lea} godeu. Se

amestecă cu reactiv **BUF** și respingeți 50 µL.

Această diluție (1/80) este controlul seric, al cărui rol este de a detecta aglutininile naturale împotriva oilor care pot conține niște seruri.

- Agitați bine reactivii **R1** și **R2**.

- Depuneți 1 picătură de reactiv **R1** în primele 6 godeuri.
- Depuneți 1 picătură de reactiv **R2** în al 7^{lea} godeu (control seric).
- Depuneți 1 picătură de reactiv **R1** în al 8^{lea} godeu (control reactiv) al cărui rol este de a verifica valabilitatea reactivului **BUF** și al reactivului **R1**.

Notă: efectuați un singur control reactiv pe fiecare test.

- Omogenizați foarte atent conținutul godeurilor:

- fie manual, prin atingere laterală pe părțile laterale ale microplăcii, așezate plat;
- fie folosind un agitator cu vibrații pentru plăci de microfiltrare (de exemplu, 1300 rotații/minut timp de 10 secunde). Nu utilizați un agitator orbital.

- Lăsați placa în continuare nemișcată, protejată de vibrații.

- Citiți reacția după 2 ore.

-

9.3 - Adsorbția aglutininelor naturale împotriva oilor în cazul aglutinării controlului seric

- Agitați bine reactivul **R3**.

- Distribuți într-un tub și amestecați:

- 0,1 mL de ser;
- 0,3 mL de reactiv **R3**.

- Se incubează timp de 60 de minute la temperatura camerei.

- Se centrifughează la 2000 rpm timp de 15 minute.

- Strângeți supernatantul; serul este apoi diluat 1/4.

- Se diluează supernatantul 1/10 în reactiv **BUF** pentru a obține o diluție maternă (1/40) adsorbită.

- Repetați protocolul "Realizarea testului cu microplăci" prin înlocuirea diluției materne cu diluția stocului adsorbit.

10 - CITIREA

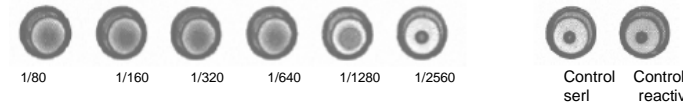
Reacție negativă: Absența hemaglutinării.

Prezența unui inel mai mult sau mai puțin lat în partea inferioară a godeului.

Reacție pozitivă: Prezența hemaglutinării.

Prezența unui voal roșu/maron care acoperă godeul; uneori, există o granită fină periferică.

Exemplu: Ser pozitiv la 1/1280



11 - INTERPRETAREA REZULTATELOR

Titlu <1/160: Reacție nesemnificativă a unei infecții active.

Reînnoiți testul cu 2 până la 3 săptămâni mai târziu și asociați cu electrosinereză sau imunoelectroforeză.

Titlu = 1/160: Reacție indoleicnică.

Posibilitatea de a interpreta candidoza evoluționistă în funcție de contextul clinic. Reînnoiți testul cu 2 până la 3 săptămâni mai târziu și asociați cu electrosinereză sau imunoelectroforeză.

Titlu > 1/320: Răspuns semnificativ în favoarea candidozei progresive.

12 - CONTROLUL INTERN AL CALITĂȚII

Reactivii **Control +** și **CONTROL-** ar trebui tratate ca serul de analizat. Titlul reactivului **Control +** trebuie să fie egală cu titlul indicat pe eticheta flaconului la ± o diluție. Reactivul **CONTROL-** trebuie să aibă o absență a hemaglutinării. În caz contrar, testul nu este valabil.

13 - CAUZELE DE EROARE ȘI LIMITELE TESTELOR

- Conservarea slabă a serului.
- Depozitarea incorectă a reactivilor după deschidere.
- Utilizați numai picurătorii prevăzuți în set.
- Nu amestecați picurătorii între reactivii **R1** și **R2**.
- În cazul unei reacții pozitive în primele 6 godeuri, continuați diluțiile pentru a găsi titlul limită de hemaglutinare.
- Controlul seric ar trebui să ducă la o reacție negativă (inel). În cazul hemaglutinării acestui control, este necesară repetarea testului după eliminarea aglutininelor naturale anti-ovine din ser prin adsorbție.
- Controlul reactiv trebuie să ducă la o reacție negativă (inel). În cazul hemaglutinării acestui control, reactivii **ELI.HA Candida** nu pot fi folosite.
- Unele seruri, ale căror concentrații de anticorpi sunt foarte mari, pot determina fenomenul zonei (cu retragerea vâului) în primele diluții, care dispăre în următoarele diluții.
- Calitatea reactivilor face posibilă efectuarea reacției seara și efectuarea lecturii în dimineața următoare, cu condiția ca microplaca să nu sufere nici o deplasare și să fie imună la vibrații.
- În toate cazurile și înainte de stabilirea diagnosticului final, interpretarea testului trebuie efectuată prin integrarea tuturor datelor clinice, epidemiologice și biologice și a rezultatelor celorlalte teste.

14 - PERFORMANTE

ELI.HA *Candida* este format din celule roșii din sânge sensibilizate cu un antigen *Candida albicans*. Se asigură sensibilitatea și specificitatea reacției.

Astfel, rezultatele evaluărilor de testare arată o sensibilitate de 85,4% și o specificitate de 97,9%.

15 - ELIMINAREA DEȘEURILOR

Deșeurile trebuie eliminate în conformitate cu normele și reglementările de igienă în vigoare pentru acest tip de produs în țara de utilizare.

În cazul deversării accidentale a reactivului **BUF**, curățați suprafața de lucru cu hârtie absorbantă și clătiți cu apă. În cazul deversării unui ser sau a altui reactiv, curățați-l cu înălbitor și prosoape de hârtie.

16 - BIBLIOGRAFIE

- 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.

Modificările de la versiunea anterioară sunt evidențiate în gri.

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

