

## Návod k použití

# Hemkit<sup>®</sup> Candida IHA

 80 stanovení

*In vitro* diagnostický zdravotnický prostředek

Verze 08/2019

Věnujte prosím pozornost rozdílům oproti předchozí verzi zvýrazněným šedou barvou.  
verzí 12/2015

### **Určené použití:**

Hemkit Candida IHA je nepřímý hemaglutinační test pro kvalitativní detekci specifických lidských protilátek proti *Candida albicans* (IgM, IgA a IgG).

Díky své vysoké citlivosti je Hemkit Candida IHA vhodný pro sledování pacientů vystavených mykóze (1) a pro včasnou detekci mykotické infekce.

Nespecifické reakce se vyskytují zřídka a lze je eliminovat speciální absorpcí.

### **Shrnutí:**

*Candida albicans* je oportunní patogenní kvasinka o velikosti 4 - 8  $\mu\text{m}$ . Patří k "normální" flóře sliznic zevních pohlavních orgánů a dýchacích a trávicích cest a je součástí "normální" flóry a trávicího traktu lidí a zvířat.

U osob se sníženou imunitou (např. v důsledku infekce HIV, imunosuprese, stresu atd.) nebo při léčbě antibiotiky či chemoterapii se *Candida albicans* může stát patogenní.

Infekce (kandidová mykóza, kandidóza, kandidóza) může být povrchová a místní nebo invazivní a systémová.

### **Princip testu:**

Ovčí erythrocyty byly senzibilizovány složkami buněčné stěny *Candida albicans*, sérotyp A. Séra pacientů obsahující protilátky proti *C. albicans* způsobují aglutinaci erythrocytů. Vzhledem k tomu, že mají podobnou antigenní strukturu, protilátky proti *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*































a *Turolopsis* (*C. glabrata*). Test reaguje s protilátkami tříd IgM, IgG a IgA a v některých případech také s komplexem antigen/protilátka.

### **Skladování:**

Všechny otevřené i neotevřené složky soupravy jsou stabilní do data expirace při teplotě +2...+8°C.

Testovací a kontrolní buňky skladujte vždy ve svislé poloze, aby nemohly vyschnout.

## Reagencie, bezpečnostní pokyny a symboly

Součásti a popis	Množství	Bezpečnostní pokyny	Symboly								
<b>Testovací buňky TC</b> Před použitím dobře protřepejte Kapalný, připravený k použití Stabilizované ovčí buňky, senzibilizované buněčnou stěnou ze složek <i>C. albicans</i> typu A Koncentrace 0,5 % v ředidle Červený šroubovací uzávěr	3 x 10 ml	A,B									
<b>Kontrolní buňky CC</b> Před použitím dobře protřepejte Tekutý, připravený k použití Nesenzibilizované ovčí buňky. Koncentrace 0,5 % v ředidle Modrý šroubovací uzávěr	1 x 10 ml	A,B									
<b>Ředidlo DI</b> Pro ředění patientských sér Fosfátový pufovaný roztok s králičími proteiny Bílý šroubovací uzávěr	2 x 45 ml	A,B									
<b>Pozitivní kontrola PC</b> Zvířecí kontrolní sérum se specifickými protilátkami proti <i>C. albicans</i> . Titer: viz etiketa. Červený šroubovací uzávěr	1x0,5 ml	A, B, C									
<b>Negativní kontrola NC</b> Tekutý, připravený k použití Lidské sérum zdravého dárce krve Bezbarvý šroubovací uzávěr	1x0,5 ml	A, B, D									
Návod k použití	1x										
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 25%;"> In vitro diagnostický zdravotnický prostředek</td> <td style="width: 25%;"> Počet stanovení</td> </tr> <tr> <td> Číslo šarže</td> <td> Skladování při x - x °C</td> </tr> <tr> <td> Výrobce</td> <td> Stabilní do</td> </tr> <tr> <td> Číslo výrobku</td> <td> Obsahuje</td> </tr> </table>				 In vitro diagnostický zdravotnický prostředek	 Počet stanovení	 Číslo šarže	 Skladování při x - x °C	 Výrobce	 Stabilní do	 Číslo výrobku	 Obsahuje
 In vitro diagnostický zdravotnický prostředek	 Počet stanovení										
 Číslo šarže	 Skladování při x - x °C										
 Výrobce	 Stabilní do										
 Číslo výrobku	 Obsahuje										

### Bezpečnostní pokyny

A: Sodiuzid v koncentraci 0,1 % je považován za nebezpečný.  
 H302: Zdraví škodlivý po požití.  
 EUH032: Při styku s kyselinou vznik toxického plynu.

B: Obsahuje materiál z živočišných zdrojů. Ačkoli je pouze materiál ze zdravých zvířat použity, měly by být tyto materiály obecně považovány za potenciálně infekční a mělo by s nimi být odpovídajícím způsobem nakládáno.

C: Obsahuje BSA. Zvířata, která byla použita k výrobě BSA, byla prostá infekčních nakažlivých chorob.  
Nicméně materiály ze zvířecích zdrojů by měly být obecně považovány za potenciálně infekční a mělo by s nimi být odpovídajícím způsobem nakládáno.

D: Obsahuje materiál lidského původu.  
Ačkoli složky byly testovány na přítomnost HbsAg a protilátek proti HIV-1, HIV-2 a HCV a byly shledány negativními, měly by být obecně považovány za potenciálně infekční a mělo by s nimi být odpovídajícím způsobem nakládáno.

***Veškerý obsah soupravy by měl být zlikvidován v souladu s federálními, státními a místními předpisy pro likvidaci odpadu!***

### **Požadované materiály, které nejsou součástí testovací sady**

Mikrotitrační destičky ve tvaru písmene U

Pipety s jednorázovými špičkami (např. 10-100 µl)

Jednorázové ochranné rukavice

### **Vzorek:**

Přednostně by měl být použit čerstvě odebraný vzorek (sérum, plazma nebo mozkomíšní mok). Vzorek lze skladovat při teplotě 2-8 °C po dobu až 5 dnů. Pro dlouhodobé skladování (několik měsíců) by měl být vzorek uchovávan v alikvotech při -20 °C. Vyvarujte se opakovaného rozmrazování a zmrazování.

Kontaminovaný vzorek může vést k falešně pozitivním nebo negativním výsledkům a neměl by být použit.

### **Pracovní postup:**

**Před použitím všechny reagenty vytemperujte .**

- Používejte pouze čerstvá, nativní séra.
- Označte destičky s U-jamkami.

Titrace séra pacienta a kontrolního séra ( 10 jamek):

#### **1. Diluent**

jamka 1	150 µl
jamka 2	200 µl
jamka 3	50 µl každá

#### **2. Vzorky a pozitivní kontrola**

jamka 1	50 µl dobře promíchat
---------	-----------------------

#### **3. Ředění**

Přeneste 50 µl z jamky 1 do jamky 2, promíchat a přeneste 50 µl z jamky 2 do jamky 4. Dobře promíchejte a udělejte tímto způsobem další ředění až do jamky 10; z jamky 10 odstraňte 50 µl.

Pro kontrolu séra: **přeneste 50 µl z jamky 2 do jamky 3, dobře promíchejte odstraňte 50 µl z jamky 3.**

**4. Testovací buňky (dobře promíchejte)**

jamky 4-10 50 µl

**5. Kontrolní buňky (dobře promíchejte)**

jamka 3 50 µl

Pohybujte destičkou 2 minuty, potom přikryjte a inkubujte alespoň 3 hodiny při laboratorní teplotě.

**Konečné odečítání: po inkubaci přes noc při pokojové teplotě.**

Schéma titrace séra pacienta a kontrol (hodnoty v µl)

Jamka č.	1	2	3	4	5	6	7	8..	..10
Diluent	150	200	50	50	50	50	50	50	50
Serum/pos.kontr.	50 →	. →		. →	. →	. →	. →	. →	. →
		-----→							
Ředění 1	4	20	40	40	80	160	320	640	2560
Kontrolní buňky			50						
Testovací buňky				50	50	50	50	50	...50
Konečné ředění 1			80*	80	160	320	640	1280	5120

\* Kontrola séra

**Odečítání a interpretace**

Patognomonicky důležité jsou titry zvyšující se v krocích po nejméně 2 titrech. U pacientů s imunosupresí a u všech pacientů s narušenou syntézou imunoglobulinů je nižší hladina imunoglobulinů než u pacientů s imunosupresí.

U těchto pacientů jsou nižší titry rovněž významné. V těchto případech se je nezbytné provést titraci séra s počátečním ředěním 1:10.

Normální hodnota: ≤ 1:160

Výsledky byly získány vyšetřením pozitivní kontroly a certifikátů kontroly kvality.

**\*Poznámky ke kontrole séra:**

Pokud je v jamce 3 pozitivní reakce, musí být vzorek zpracován metodou absorpce kontrolními buňkami a znovu otestován (postup viz strana 5 a 6).

**Jsou možné následující výsledky hemaglutinace:**

Jemná vrstva z buněk pokrývající celé dno, 4+  
někdy s ohnutými okraji.

Jemná vrstva buněk pokrývající část dna. 3+

Jemná matná vrstva buněk pokrývající část dna, 2+  
obklopená jemným kroužkem erytrocytů.

Hladká vrstva z buněk se širokým erytrocytárním prstencem, 1+  
pokrývající méně než polovinu dna.

Zřetelný erytrocytární prsteneček (někdy s malým otvorem), -  
nebo knoflík z buněk.

Interpretace podle Certifikátu kontroly kvality.

### **Testovací postup s absorpcí**

- Odeberte 10 µl séra + 90 µl kontrolních buněk; inkubujte 30 minut při pokojové teplotě.
- Odstřed'ujte 10 minut při 3000 otáčkách za minutu.
- Poznámka: vzorek séra se ředí v supernatantu 1:10. Toto ředění použijte pro opakované testování.

### **Testujte v 10 krocích ředění:**

- 1. Diluent**  
jamky 3-10            50 µl do každé
- 2. Vzorek (po absorpci)**  
jamka 3            50 µl , dobře promíchejte
- 3. Ředění**  
Přeneste 50 µl z jamky 3 do jamky 4, proveďte další ředění až do jamky 10;  
zlikvidujte. 50 µl z jamky 10.
- 4. Kontrolní buňky (dobře promíchejte)**  
jamka 3            50 µl
- 5. Testovací buňky (promíchejte jamku)**  
jamky 4-10            50 µl do každé

Destičku 2 minuty míchejte, zakryjte a inkubujte nejméně 3 hodiny při pokojové teplotě.

**Konečné odečítání: Po inkubaci přes noc při pokojové teplotě.**

**Schéma titrace séra pacienta a kontrol (hodnoty v  $\mu$ l)**

Jamka č.	1	2	3	4	5	6	7	8..	..10
Diluent	150	200	50	50	50	50	50	50	50
Serum/pos.kontr.	50 →	. →		.→	.→	.→	.→	.→	.→
		-----→							
Ředění 1	4	20	40	40	80	160	320	640	2560
Kontrolní buňky			50						
Testovací buňky				50	50	50	50	50	...50
Konečné ředění 1			80*	80	160	320	640	1280	5120

\* Kontrola séra

**Omezení testu:**

Výsledky sérologických testů musí být vždy vnímány a hodnoceny v kontextu klinického stavu, příznaků a údajů o daném pacientovi.

- Pozitivní vzorky by měly být potvrzeny pomocí testovacích systémů specifických pro IgM, IgA a IgG (např. ELISA).
- Ve vzácných případech mohou být falešně negativní reakce způsobeny prozonálním fenoménem. Vzorky, které vykazují prozonální fenomén, obvykle vykazují malý kroužek, často v prvním stupni ředění, zatímco další stupně ředění jsou pozitivní. (široké erytrocytární kroužky nebo hladké rohože). V případě podezření na prozonový jev vzorky by měly být testovány ve vyšších počátečních ředěních (např. od 1 : 160).

**Interferující látky:**

Nebyly pozorovány žádné interference do 2 mg /ml pro hemoglobin, 0,2 mg/ml pro bilirubin.

a 32 mg/ml pro triglyceridy. Nicméně ikterické, hemolytické a lipemické vzorky by se, pokud možno, neměly používat.

**Kontrola kvality:**

Pozitivní a negativní kontrola musí dosahovat titrů uvedených na štítcích reziduí.

Je přípustná odchylka  $\pm$  1 titrační stupeň.

Hodnocení viz Certifikát kontroly kvality.

## Provedení testu:

### **1. Specificita**

Specifičnost je 98,2 % a byla stanovena na základě předem prověřené populace vzorků. (n= 56), protože prevalence *Candida albicans* je vysoká.

### **2. Senzitivita**

Citlivost je 97,2 % u vzorků (n=71), které byly testovány a považovány za pozitivní v externí rutinní laboratoři.

## Odkazy:

1. E. Werle, R. Kappe, W. Fiehn und H.-G. Sonntag. Nachweis von Anti-Candida-Antikörpern der Klassen IgM, IgG und IgA mittels Enzymimmunoassays in sequentiellen Serumproben hospitalisierter Patienten. *Mycoses* 37, 71-78 (1994)



CA001



**ravo** Diagnostika GmbH

Oltmannsstrasse 5

79100 Freiburg, FRG

Tel.: +49-(0)761-40 74 88

Fax: +49-(0)761-40 74 77

E-Mail: [info@ravo.de](mailto:info@ravo.de)

Internet: [www.ravo.de](http://www.ravo.de)

Verze 08/2019