



**SZABO  
SCANDIC**

Part of Europa Biosite

## Produktinformation



Forschungsprodukte & Biochemikalien



Zellkultur & Verbrauchsmaterial



Diagnostik & molekulare Diagnostik



Laborgeräte & Service

Weitere Information auf den folgenden Seiten!  
See the following pages for more information!



### Lieferung & Zahlungsart

siehe unsere [Liefer- und Versandbedingungen](#)

### Zuschläge

- Mindermengenzuschlag
- Trockeneiszuschlag
- Gefahrgutzuschlag
- Expressversand

### SZABO-SCANDIC HandelsgmbH

Quellenstraße 110, A-1100 Wien

T. +43(0)1 489 3961-0

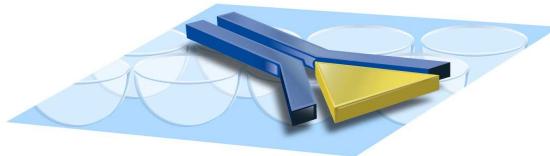
F. +43(0)1 489 3961-7

[mail@szabo-scandic.com](mailto:mail@szabo-scandic.com)

[www.szabo-scandic.com](http://www.szabo-scandic.com)

[linkedin.com/company/szaboscandic](http://linkedin.com/company/szaboscandic)



**NovaLisa™**

# Candida albicans

## IgG - ELISA

CE

Enzyme immunoassay for the qualitative determination of IgG-class antibodies against Candida albicans in human serum or plasma

Enzymimmunoassay zur qualitativen immunenzymatischen Bestimmung von IgG-Antikörpern gegen Candida albicans in Humanserum oder Plasma

Enzyme immunoassay pour la détermination qualitative des anticorps IgG contre Candida albicans en sérum humain ou plasma

Test immunoenzimatico per la determinazione qualitativa degli anticorpi della classe IgG per Candida albicans nel siero o plasma umano

Enzimoinmunoensayo para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG contra Candida albicans en suero o plasma humano

**Only for in-vitro diagnostic use**

English:	Page	2 to 6
Deutsch:	Seite	7 bis 11
Francais:	Page	12 à 16
Italiano:	da Pagina	17 a 21
Espanol:	Página	22 a 26

For further languages please contact our authorized distributors.

Bibliography / Literatur / Bibliographie / Bibliografia / Bibliografía	Page / Seite / Page / Pagina / Página	30
Symbols Key / Symbolschlüssel / Explication des symboles / Legenda / Símbolos	Page / Seite / Page / Pagina / Página	31
Summary of Test Procedure/ Kurzanleitung Testdurchführung/ Résumé de la procedure de test/ Schema della procedura/ Resumen de la técnica	Page / Seite / Page/ / Pagina / Página	32

---

Product Number: CANG0060 (96 Determinations)

---

## 1. INTRODUCTION

Candida albicans is an ubiquitous present yeast like fungus belonging to the family of ascomycota. It is a facultative pathogen belonging to the normal microbial flora of skin and mucosa. Beside the yeast form which appears mainly with superficial infections, so called pseudomycelia are another morphological form of ascomycota. Pseudomycelia prevail with invasive mycosis. Although not pathogenic in healthy humans the fungus may be opportunistic in those suffering from a variety of disorders, and in those treated intensively with broad-spectrum antibiotics or immunosuppressive measures. Candidiasis is caused to about 90% by C. albicans. It is an acute, superficial or subacute, invasive infection. Acute infections with the fungus may produce lesions in the mouth, vagina, skin and nails. Subacute infections may affect bronchi, lungs, heart or meningeal. In immunosuppressant patients with cellular immunodeficiency, e.g., AIDS patients, C. albicans may lead to severe necroses of infected tissues.

Species	Symptoms	Complications	Mechanism of Infection
Candida albicans	Depending upon the location of C. albicans infectious the kind of lesion varies. Oral infections for example show typical creamy white patches of thrush whereas in bronchial candidiasis cough is the most characteristic symptom	Sepsis	Endogene: Usually candidiasis is due to increased susceptibility to a member of the normal human flora. Exogene: Transmission between individuals: Infection of newborns from the birth canal; transmission by non-sterile hospital equipment

### Detection:

- Microscopy: Gram stain, isolation of the organism in cultures
- Serology: Detection of specific antibodies by ELISA.

## 2. INTENDED USE

The NovaTec Candida albicans IgG ELISA is intended for the qualitative determination of IgG class antibodies against Candida albicans in human serum or plasma (citrate).

## 3. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The qualitative immunoenzymatic determination of IgG-class antibodies against Candida albicans is based on the ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) technique.

Microtiter strip wells are precoated with Candida albicans antigens to bind corresponding antibodies of the specimen. After washing the wells to remove all unbound sample material horseradish peroxidase (HRP) labelled anti-human IgG conjugate is added. This conjugate binds to the captured Candida albicans-specific antibodies. The immune complex formed by the bound conjugate is visualized by adding Tetramethylbenzidine (TMB) substrate which gives a blue reaction product. The intensity of this product is proportional to the amount of Candida albicans -specific IgG antibodies in the specimen. Sulphuric acid is added to stop the reaction. This produces a yellow endpoint colour. Absorbance at 450 nm is read using an ELISA microwell plate reader.

## 4. MATERIALS

### 4.1. Reagents supplied

- **Candida albicans Coated Wells (IgG):** 12 breakapart 8-well snap-off strips coated with Candida albicans antigen; in resealable aluminium foil.
- **IgG Sample Diluent \*\*\*:** 1 bottle containing 100 ml of buffer for sample dilution; pH 7.2 ± 0.2; coloured yellow; ready to use; white cap.
- **Stop Solution:** 1 bottle containing 15 ml sulphuric acid, 0.2 mol/l; ready to use; red cap.
- **Washing Solution (20x conc.)\*:** 1 bottle containing 50 ml of a 20-fold concentrated buffer (pH 7.2 ± 0.2) for washing the wells; white cap.
- **Candida albicans anti-IgG Conjugate\*\*:** 1 bottle containing 20 ml of peroxidase labelled rabbit antibody to human IgG; coloured blue, ready to use; black cap.
- **TMB Substrate Solution:** 1 bottle containing 15 ml 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB); ready to use; yellow cap.
- **Candida albicans IgG Positive Control\*\*\*:** 1 bottle containing 2 ml; coloured yellow; ready to use; red cap.
- **Candida albicans IgG Cut-off Control\*\*\*:** 1 bottle containing 3 ml; coloured yellow; ready to use; green cap.
- **Candida albicans IgG Negative Control\*\*\*\*:** 1 bottle containing 2 ml; coloured yellow; ready to use; blue cap.

\* contains 0.1 % Bronidox L after dilution

\*\* contains 0.2 % Bronidox L

\*\*\* contains 0.1 % Kathon

## **4.2. Materials supplied**

- 1 Strip holder
- 1 Cover foil
- 1 Test protocol
- 1 distribution and identification plan

## **4.3. Materials and Equipment needed**

- ELISA microwell plate reader, equipped for the measurement of absorbance at 450/620nm
- Incubator 37°C
- Manual or automatic equipment for rinsing wells
- Pipettes to deliver volumes between 10 and 1000 µl
- Vortex tube mixer
- Deionised or (freshly) distilled water
- Disposable tubes
- Timer

## **5. STABILITY AND STORAGE**

---

The reagents are stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2...8 °C.

## **6. REAGENT PREPARATION**

---

*It is very important to bring all reagents, samples and controls to room temperature (20...25°C) before starting the test run!*

### **6.1. Coated snap-off strips**

The ready to use breakapart snap-off strips are coated with Candida albicans antigen. Store at 2...8°C. *Immediately after removal of strips, the remaining strips should be resealed in the aluminium foil along with the desiccant supplied and stored at 2...8 °C; stability until expiry date.*

### **6.2. Candida albicans anti-IgG Conjugate**

The bottle contains 20 ml of a solution with anti-human-IgG horseradish peroxidase, buffer, stabilizers, preservatives and an inert blue dye. The solution is ready to use. Store at 2...8°C. *After first opening stability expiry date when stored at 2...8°C.*

### **6.3. Controls**

The bottles labelled with Positive, Cut-off and Negative Control contain a ready to use control solution. It contains 0.1% Kathon and has to be stored at 2...8°C. *After first opening stability expiry date when stored at 2...8°C.*

### **6.4. IgG Sample Diluent**

The bottle contains 100 ml phosphatebuffer, stabilizers, preservatives and an inert yellow dye. It is used for the dilution of the patient specimen. This ready to use solution has to be stored at 2...8°C. *After first opening stability expiry date when stored at 2...8°C.*

### **6.5. Washing Solution (20xconc.)**

The bottle contains 50 ml of a concentrated buffer, detergents and preservatives. Dilute washing solution 1+19; e.g. 10 ml washing solution + 190 ml fresh and germ free redistilled water. The diluted buffer will keep for 5 days if stored at room temperature. *Crystals in the solution disappear by warming up to 37 °C in a water bath. After first opening the concentrate is stable until the expiry date*

### **6.6. TMB Substrate Solution**

The bottle contains 15 ml of a tetramethylbenzidine/hydrogen peroxide system. The reagent is ready to use and has to be stored at 2...8°C, away from the light. *The solution should be colourless or could have a slight blue tinge. If the substrate turns into blue, it may have become contaminated and should be thrown away. After first opening stability expiry date when stored at 2...8°C.*

### **6.7. Stop Solution**

The bottle contains 15 ml 0.2 M sulphuric acid solution (R 36/38, S 26). This ready to use solution has to be stored at 2...8°C. *After first opening stability until expiry date..*

## **7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION**

---

Use human serum or plasma (citrate) samples with this assay. If the assay is performed within 5 days after sample collection, the specimens should be kept at 2...8°C; otherwise they should be aliquoted and stored deep-frozen (-20 to -70°C). If samples are stored frozen, mix thawed samples well before testing. *Avoid repeated freezing and thawing.*

Heat inactivation of samples is not recommended.

### **7.1. Sample Dilution**

Before assaying, all samples should be diluted 1+100 with IgG Sample Diluent. Dispense 10µl sample and 1ml IgG Sample Diluent into tubes to obtain a 1+100 dilution and thoroughly mix with a Vortex.

## **8. ASSAY PROCEDURE**

---

### **8.1. Test Preparation**

Please read the test protocol carefully before performing the assay. Result reliability depends on strict adherence to the test protocol as described. The following test procedure is only validated for manual procedure. If performing the test on ELISA automatic systems we recommend to increase the washing steps from three to five and the volume of washing solution from 300 $\mu$ l to 350 $\mu$ l to avoid washing effects. Prior to commencing the assay, the distribution and identification plan for all specimens and controls should be carefully established on the result sheet supplied in the kit. Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

Please allocate at least:

- |         |              |                             |
|---------|--------------|-----------------------------|
| 1 well  | (e.g. A1)    | for the substrate blank,    |
| 1 well  | (e.g. B1)    | for the negative control,   |
| 2 wells | (e.g. C1+D1) | for the cut-off control and |
| 1 well  | (e.g. E1)    | for the positive control.   |

*It is recommended to determine controls and patient samples in duplicate, if necessary.*

Perform all assay steps in the order given and without any appreciable delays between the steps.

A clean, disposable tip should be used for dispensing each control and sample.

Adjust the incubator to 37° ± 1°C.

1. Dispense 100 $\mu$ l controls and diluted samples into their respective wells. Leave well A1 for substrate blank.
2. Cover wells with the foil supplied in the kit.
3. **Incubate for 1 hour ± 5 min at 37±1°C.**
4. When incubation has been completed, remove the foil, aspirate the content of the wells and wash each well three times with 300 $\mu$ l of Washing Solution. Avoid overflows from the reaction wells. The soak time between each wash cycle should be >5sec. At the end carefully remove remaining fluid by tapping strips on tissue paper prior to the next step!

*Note: Washing is critical! Insufficient washing results in poor precision and falsely elevated absorbance values.*

5. Dispense 100 $\mu$ l Candida albicans anti-IgG Conjugate into all wells except for the blank well (e.g. A1). Cover with foil.
6. **Incubate for 30 min at room temperature. Do not expose to direct sunlight.**
7. Repeat step 4.
8. Dispense 100 $\mu$ l TMB Substrate Solution into all wells
9. **Incubate for exactly 15 min at room temperature in the dark.**
10. Dispense 100 $\mu$ l Stop Solution into all wells in the same order and at the same rate as for the TMB Substrate Solution.

*Any blue colour developed during the incubation turns into yellow.*

*Note: Highly positive patient samples can cause dark precipitates of the chromogen! These precipitates have an influence when reading the optical density. Predilution of the sample with physiological sodium chloride solution, for example 1+1, is recommended. Then dilute the sample 1+100 with dilution buffer and multiply the results in NTU by 2.*

11. Measure the absorbance of the specimen at 450/620nm within 30 min after addition of the Stop Solution.

### **8.2. Measurement**

Adjust the ELISA Microwell Plate Reader **to zero** using the **substrate blank in well A1**.

*If - due to technical reasons - the ELISA reader cannot be adjusted to zero using the substrate blank in well A1, subtract the absorbance value of well A1 from all other absorbance values measured in order to obtain reliable results!*

**Measure the absorbance** of all wells at **450 nm** and record the absorbance values for each control and patient sample in the distribution and identification plan.

*Dual wavelength reading using 620 nm as reference wavelength is recommended.*

Where applicable calculate the **mean absorbance values** of all duplicates.

## **9. RESULTS**

---

### **9.1. Run Validation Criteria**

In order for an assay to be considered valid, the following criteria must be met:

- **Substrate blank** in A1: Absorbance value **< 0.100**.
- **Negative control** in B1: Absorbance value **< 0.200 and < cut-off**
- **Cut-off control** in C1 and D1: Absorbance value **0.150 – 1.30**.
- **Positive control** in E1: Absorbance value **> cut-off**.

If these criteria are not met, the test is not valid and must be repeated.

## 9.2. Calculation of Results

The mean absorbance value of the cut-off control has to be calculated.

The cut-off is calculated by multiplying the cut-off control value with 2.5.

Example: Absorbance value Cut-off control 0.39 + absorbance value Cut-off control 0.37 = 0.76 / 2 = 0.38

Cut-off control value = 0.38

Calculated Cut-off = 0.38 x 2.5 = 0.95

## 9.3. Interpretation of Results

Samples are considered NEGATIVE if the absorbance value is lower than the calculated cut-off.

Samples with an absorbance value up to 20% above the calculated cut-off should **not** be considered as clearly positive  
→ grey zone

It is recommended to repeat the test again 2 - 4 weeks later with a fresh sample. If results in the second test are again in the grey zone the sample has to be considered NEGATIVE.

Samples are considered POSITIVE if the absorbance value is more than 20% higher than the calculated cut-off.

### 9.3.1. Results in NovaTec Units

Patient (mean) absorbance value x 10 = [NovaTec Units = NTU]  
Cut-off control value

Example:  $\frac{1.216 \times 10}{0.38} = 32$  NTU (NovaTec Units)

Calculated Cut-off: 25 NTU

Grey zone: 25 - 30 NTU

Negative: <25 NTU

Positive: >30 NTU

The borderline value of *Candida albicans* IgG was established in a way that most of tested serum samples from unselected blood donors showed negative or borderline results. Therefore positive IgG-results indicate an acute infection and not the remaining IgG antibodies from a previous infection. If already moderately elevated antibody titers should be detected and interpreted as positive results, a borderline region of 10-25 NTU can be also applied. In this connection, however, it has to be unconditionally observed that titers which are due to seroprevalence are no longer completely blanked out. Therefore a serological positive result has to be looked upon then very critically, especially if the clinical picture and/or results of other detection methods are not available.

## 10. SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 10.1. Precision

<u>Interassay</u>	<u>n</u>	<u>Mean</u>	<u>Cv (%)</u>
Pos. Serum	20	18	5.1
<b>Intraassay</b>			
<u>Intraassay</u>	<u>n</u>	<u>Mean</u>	<u>Cv (%)</u>
Pos. Serum	8	1.0	4.3

### 10.2. Diagnostic Specificity

The diagnostic specificity is defined as the probability of the assay of scoring negative in the absence of the specific analyte. It is >95 %.

### 10.3. Diagnostic Sensitivity

The diagnostic sensitivity is defined as the probability of the assay of scoring positive in the presence of the specific analyte. It is 93 %.

### 10.4. Interferences

Interferences with hemolytic, lipemic or icteric sera are not observed up to a concentration of 10 mg/ml hemoglobin, 5 mg/ml triglycerides and 0.2 mg/ml bilirubin.

**Note:** The results refer to the groups of samples investigated; these are not guaranteed specifications.

## 11. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Bacterial contamination or repeated freeze-thaw cycles of the specimen may affect the absorbance values. Diagnosis of an infectious disease should not be established on the basis of a single test result. A precise diagnosis should take into consideration clinical history, symptomatology as well as serological data.

In immunocompromised patients and newborns serological data only have restricted value.

## **12. PRECAUTIONS AND WARNINGS**

---

- In compliance with article 1 paragraph 2b European directive 98/79/EC the use of the in vitro diagnostic medical devices is intended by the manufacturer to secure suitability, performances and safety of the product. Therefore the test procedure, the information, the precautions and warnings in the instructions for use have to be strictly followed. The use of the testkits with analyzers and similar equipment has to be validated. Any change in design, composition and test procedure as well as for any use in combination with other products not approved by the manufacturer is not authorized; the user himself is responsible for such changes. The manufacturer is not liable for false results and incidents for these reasons. The manufacturer is not liable for any results by visual analysis of the patient samples.
- Only for in-vitro diagnostic use.
- All components of human origin used for the production of these reagents have been tested for anti-HIV antibodies, anti-HCV antibodies and HBsAg and have been found to be non-reactive. Nevertheless, all materials should still be regarded and handled as potentially infectious.
- Do not interchange reagents or strips of different production lots.
- No reagents of other manufacturers should be used along with reagents of this test kit.
- Do not use reagents after expiry date stated on the label.
- Use only clean pipette tips, dispensers, and lab ware.
- Do not interchange screw caps of reagent vials to avoid cross-contamination.
- Close reagent vials tightly immediately after use to avoid evaporation and microbial contamination.
- After first opening and subsequent storage check conjugate and control vials for microbial contamination prior to further use.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense conjugate without splashing accurately to the bottom of wells.
- The NovaLisa™ ELISA is only designed for qualified personnel who are familiar with good laboratory practice.

**WARNING:** In the used concentration Bronidox L has hardly any toxicological risk upon contact with skin and mucous membranes!

**WARNING:** Sulphuric acid irritates eyes and skin. Keep out of the reach of children. Upon contact with the eyes, rinse thoroughly with water and consult a doctor!

### **12.1. Disposal Considerations**

Residues of chemicals and preparations are generally considered as hazardous waste. The disposal of this kind of waste is regulated through national and regional laws and regulations. Contact your local authorities or waste management companies which will give advice on how to dispose hazardous waste.

## **13. ORDERING INFORMATION**

---

Prod. No.: CANG0060      Candida albicans IgG-ELISA (96 Determinations)

## 1. EINLEITUNG

---

Candida albicans ist ein ubiquitär vorkommender Hefepilz, welcher zur Familie der Sprosspilze gehört. Es handelt sich um einen fakultativ pathogenen Erreger, der zur Normalflora von Haut und Schleimhäuten gehört. Neben der Hefeform, welche in erster Linie bei oberflächlichen Infektionen auftritt, sind sogenannte Pseudomyzelien eine weitere morphologische Erscheinungsform der Sprosspilze. Die Ausbildung von Pseudomyzelien tritt überwiegend bei invasiven Mykosen auf. Obwohl Candida albicans bei Gesunden nicht pathogen ist, kann der Pilz bei Personen, die an mehreren Krankheiten leiden, intensiv mit Breitbandantibiotika behandelt werden oder immunsupprimiert sind, pathogen werden. Candidiasis ist in 90% der Fälle durch C. albicans verursacht. Es handelt sich um akute, oberflächliche oder subaktive, invasive Infektionen. Die akute Infektion führt zu Pilzbefall an oder im Mund, Vagina, Haut und Nägeln. Bei der subakuten Form können die Bronchien, die Lunge, das Herz oder die Hirnhaut betroffen sein. Bei immunsupprimierten Personen mit zellulärer Immundefizienz wie z. B. AIDS kann C. albicans zu schweren Nekrosen der infizierten Gewebe führen.

Spezies	Symptome	Komplikationen	Übertragungsweg
Candida albicans	Abhängig vom Ort der Infektion. Orale Infektionen führen zu weißen Belägen auf der Mundschleimhaut, während Infektionen der Bronchien Husten verursachen.	Sepsis	Endogen: Gewöhnlich entsteht eine Candidiasis durch eine vermehrte Verbreitung von Pilzen aus der normalen Mikroflora Exogen: Übertragung von Mensch zu Mensch (Infektion des Neugeborenen beim Durchtritt durch den Geburtskanal, unsterile Krankenhausgeräte)

Nachweis:

- Mikroskopie: Nachweis mittels Gram-Färbung, Isolation aus Zellkulturen
- Serologie: Nachweis spezifischer Antikörper mittels ELISA

## 2. VERWENDUNGSZWECK

---

Der NovaTec Candida albicans IgG ELISA ist für den qualitativen Nachweis spezifischer IgG-Antikörper gegen Candida albicans in humanem Serum oder Plasma (Citrat) bestimmt.

## 3. TESTPRINZIP

---

Die qualitative immunenzymatische Bestimmung von spezifischen IgG-Antikörpern gegen Candida albicans beruht auf der ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)-Technik.

Mikrotiterstreifen als solide Phase sind beschichtet mit Candida albicans spezifischen Antigenen. Vorhandene spezifische Antikörper in der Probe binden an die immobilisierten Antigene der Mikrotiterplatte. Meerrettich-Peroxidase (HRP)-konjugierte anti-human-IgG Antikörper binden an Antigen-Antikörperkomplexe in positiven Proben. Die entstandenen Immunkomplexe werden durch Blaufärbung nach Inkubation mit Tetramethylbenzidin (TMB) -Substratlösung nachgewiesen. Stoppen der enzymatischen Reaktion mit Schwefelsäure führt zu einem Farbumschlag von blau zu gelb, der einfach nachgewiesen und mit einem ELISA-Reader bei 450 nm gemessen werden kann.

## 4. MATERIALIEN

---

### 4.1. Mitgelieferte Reagenzien

- **Candida albicans beschichtete Mikrotiterstreifen (IgG):** 12 teilbare 8er-Streifen, beschichtet mit Candida albicans Antigen; in wiederverschließbarem Aluminiumbeutel.
- **IgG-Probenverdünnungspuffer\*\*\*:** 1 Flasche mit 100 ml Puffer zur Probenverdünnung; pH 7.2 ± 0.2; gelb gefärbt; gebrauchsfertig; weiße Verschlusskappe.
- **Stopplösung:** 1 Fläschchen mit 15 ml Schwefelsäure, 0.2 mol/l, gebrauchsfertig; rote Verschlusskappe.
- **Waschlösung (20x konz.)\*:** 1 Flasche mit 50 ml eines 20-fach konzentrierten Puffers zum Waschen der Kavitäten; pH 7.2 ± 0.2; weiße Verschlusskappe.
- **Candida albicans anti-IgG-Konjugat\*\*:** 1 Flasche mit 20 ml Peroxidase-konjugierten Antikörpern gegen humanes IgG; blau gefärbt; gebrauchsfertig; schwarze Verschlusskappe.
- **TMB-Substratlösung:** 1 Fläschchen mit 15 ml 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB); gebrauchsfertig; gelbe Verschlusskappe.
- **Candida albicans IgG Positivkontrolle\*\*\*:** 1 Fläschchen mit 2 ml; gelb gefärbt; rote Verschlusskappe; gebrauchsfertig.
- **Candida albicans IgG Cut-off Kontrolle\*\*\*:** 1 Fläschchen mit 3 ml; gelb gefärbt; grüne Verschlusskappe; gebrauchsfertig.
- **Candida albicans IgG Negativkontrolle\*\*\*:** 1 Fläschchen mit 2 ml; gelb gefärbt; blaue Verschlusskappe; gebrauchsfertig.

\* enthält 0.1 % Bronidox L nach Verdünnung

\*\* enthält 0.2 % Bronidox L

\*\*\* enthält 0.1 % Kathon

## **4.2. Mitgeliefertes Zubehör**

- 1 selbstklebende Abdeckfolie
- 1 Rahmenhalter
- 1 Arbeitsanleitung
- 1 Ergebnisblatt

## **4.3. Erforderliche Materialien und Geräte**

- Photometer mit Filtern 450/620 nm
- Feuchtkammer/Brutschrank mit Thermostat
- Manuelle oder automatische Waschvorrichtung
- Mikropipetten mit Einmalspitzen (10, 100, 200, 1000 µl)
- Vortex-Mischer
- Plastikröhren für den einmaligen Gebrauch
- Röhrchen-Ständer
- Aqua dest.
- Timer

## **5. STABILITÄT UND LAGERUNG**

Testkit bei 2...8°C lagern. Die Reagenzien nicht nach den angegebenen Verfallsdaten verwenden. Die Verfallsdaten sind jeweils auf den Flaschenetiketten und auf dem Außenetikett angegeben.

## **6. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN**

*Alle Reagenzien, Proben und Kontrollen sind vor ihrer Verwendung auf Raumtemperatur (20...25°C) zu bringen!*

### **6.1. Beschichtete Streifen**

Die abbrechbaren Streifen sind mit inaktiviertem Candida albicans Antigen beschichtet. Die gebrauchsfertigen Vertiefungen sind bei 2...8°C aufzubewahren. *Nichtverbrauchte Vertiefungen im Aluminiumbeutel zusammen mit dem Trockenmittel sofort wieder verschließen und bei 2...8°C lagern. Haltbarkeit bis zum angegebenen Verfallsdatum.*

### **6.2. Candida albicans anti-IgG-Konjugat**

Die Flasche enthält 20 ml einer Lösung von anti-human IgG-Meerrettichperoxidase, Puffer, Stabilisatoren, Konservierungsmittel und einen inerten blauen Farbstoff. Die gebrauchsfertige Lösung ist bei 2...8°C aufzubewahren. *Nach dem ersten Öffnen haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum (bei 2...8°C).*

### **6.3. Kontrollen**

Die Fläschchen mit Kontrollen enthalten gebrauchsfertige Kontrolllösungen. Die gebrauchsfertigen Lösungen sind bei 2...8°C aufzubewahren und enthalten 0.1 % Kathon. *Nach dem ersten Öffnen haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum (bei 2...8°C).*

### **6.4. IgG-Probenverdünnungspuffer**

Die Flasche enthält 100 ml Phosphatpuffer, Stabilisatoren, Konservierungsmittel und einen inerten gelben Farbstoff. Die gebrauchsfertige Lösung ist bei 2...8°C aufzubewahren. Die Lösung wird für die Verdünnung der Proben eingesetzt. *Nach dem ersten Öffnen haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum (bei 2...8°C).*

### **6.5. Waschlösung (20x konz.)**

Die Flasche enthält 50 ml konzentrierten Puffer, Detergenzien und Konservierungsmittel. Der Inhalt wird auf einen Liter mit Aqua dest. verdünnt (1+19). Der verdünnte Puffer ist bei Raumtemperatur 5 Tage haltbar. Die Waschlösung wird zum Waschen der Streifen eingesetzt. *Sollte eine Kristallisation im Konzentrat auftreten, die Waschlösung auf 37°C erwärmen und vor dem Verdünnen gut mischen. Nach dem ersten Öffnen, Konzentrat haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum (bei 2...8°C).*

### **6.6. TMB-Substratlösung**

Das Fläschchen enthält 15 ml eines Tetramethylbenzidin/Wasserstoffperoxidgemisches. Die gebrauchsfertige Lösung ist bei 2...8°C vor Licht geschützt aufzubewahren. *Die Lösung ist leicht hellblau. Sollte die TMB-Substratlösung dunkelblau sein, ist sie kontaminiert und kann nicht im Test verwendet werden. Nach dem ersten Öffnen haltbar bis zum Verfallsdatum bei sachgerechter Lagerung von 2...8°C.*

### **6.7. Stopplösung**

Das Fläschchen enthält 15 ml 0,2 M Schwefelsäure (R36/38, S26). Die gebrauchsfertige Lösung ist bei 2...8°C aufzubewahren. *Nach dem ersten Öffnen haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum (bei 2...8°C).*

## **7. ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN**

---

Es sollten humane Serum- oder Plasmaproben (Citrat) verwendet werden. Werden die Bestimmungen innerhalb von 5 Tagen nach Blutentnahme durchgeführt, können die Proben bei 2...8°C aufbewahrt werden, sonst tiefgefrieren (-70...-20°C). Wiederaufgetauten Proben vor dem Verdünnen gut schütteln. *Wiederholtes Tiefgefrieren und Auftauen vermeiden!* Hitzeaktivierung der Proben wird nicht empfohlen.

### **7.1. Probenverdünnung**

Proben vor Testbeginn im Verhältnis 1+100 mit IgG-Probenverdünnungspuffer verdünnen, z.B. 10µl Probe und 1 ml IgG-Probenverdünnungspuffer in die entsprechenden Röhrchen pipettieren, um eine Verdünnung von 1+100 zu erhalten; gut mischen (Vortex).

## **8. TESTDURCHFÜHRUNG**

---

### **8.1. Testvorbereitung**

Gebrauchsinformation **vor** Durchführung des Tests sorgfältig lesen. Für die Zuverlässigkeit der Ergebnisse ist es notwendig, die Arbeitsanleitung genau zu befolgen. Die folgende Testdurchführung ist für die manuelle Methode validiert. Beim Arbeiten mit ELISA Automaten empfehlen wir, um Wascheffekte auszuschließen, die Zahl der Waschschritte von drei auf fünf und das Volumen der Waschlösung von 300 µl auf 350 µl zu erhöhen. Vor Testbeginn auf dem mitgelieferten Ergebnisblatt die Verteilung bzw. Position der Patientenproben und Standards auf den Mikrotiterstreifen genau festlegen. Die benötigte Anzahl von Mikrotiterstreifen (Kavitäten) in den Streifenhalter einsetzen.

Hierbei mindestens

1 Vertiefung	(z.B. A1)	für den Substratleerwert (Blank),
1 Vertiefung	(z.B. B1)	für die Negativ Kontrolle und
2 Vertiefungen	(z.B. C1+D1)	für die Cut-off Kontrolle und
1 Vertiefung	(z.B. E1)	für die Positiv Kontrolle vorsehen

*Prinzipien der Qualitätssicherung in der Laboratoriumsmedizin erfordern zur höheren Sicherheit für Kontrollen und Patientenproben mindestens Doppelbestimmungen.*

Den Test in der angegebenen Reihenfolge und ohne Verzögerung durchführen.

Für jeden Pipettierschritt der Kontrollen und Proben saubere Einmalspitzen verwenden.

Den Brutschrank auf 37 ± 1°C einstellen.

1. Je 100 µl Kontrollen und vorverdünnte Proben in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren. Vertiefung A1 ist für den Substratleerwert vorgesehen.
2. Die Streifen mit der mitgelieferten Abdeckfolie bedecken.
3. **1 h ± 5 min bei 37°C inkubieren.**
4. Am Ende der Inkubationszeit Abdeckfolie entfernen und die Inkubationsflüssigkeit aus den Teststreifen absaugen. Anschließend dreimal mit 300µl Waschlösung waschen. Überfließen von Flüssigkeit aus den Vertiefungen vermeiden. Intervall zwischen Waschen und Absaugen sollte mindestens 5 sec betragen. Nach dem Waschen die Teststreifen mit den Öffnungen nach unten kurz auf Fliesspapier ausklopfen, um die restliche Flüssigkeit zu entfernen.  
*Beachte: Der Waschvorgang ist wichtig, da unzureichendes Waschen zu schlechter Präzision und falsch erhöhten Messergebnissen führt!*
5. 100µl Candida albicans anti-IgG-Konjugat in alle Vertiefungen, mit Ausnahme der für die Berechnung des Leerwertes vorgesehenen, pipettieren. Mit Folie abdecken.
6. **30 min bei Raumtemperatur (20...25°C) inkubieren. Nicht dem direkten Sonnenlicht aussetzen.**
7. Waschvorgang gemäß Punkt 4 wiederholen.
8. 100µl TMB-Substratlösung in alle Vertiefungen pipettieren.
9. **Genau 15 min im Dunkeln bei Raumtemperatur (20...25°C) inkubieren.**
10. In alle Vertiefungen 100µl Stopplösung in der gleichen Reihenfolge und mit den gleichen Zeitintervallen wie bei der TMB-Substratlösung Zugabe pipettieren. *Während der Inkubation gebildete blaue Farbe schlägt in gelb um.*  
*Hinweis: Hochpositive Patientenproben können schwärzliche Präzipitate des Chromogens verursachen! Diese Präzipitate beeinflussen die Messwerte. Es wird empfohlen, die Patientenprobe mit physiologischer Kochsalzlösung 1 + 1 zu verdünnen und anschließend die verdünnte Probe mit IgG-Probenverdünnungspuffer 1 + 100 für den Test vorzubereiten. Das Ergebnis in NTU wird in diesem Fall mit zwei multipliziert.*
11. Die Extinktion der Lösung in jeder Vertiefung bei 450/620 nm innerhalb von 30 min nach Zugabe der Stopplösung messen

## 8.2. Messung

Mit Hilfe des Substratleerwertes (Blank) in A1 den Nullabgleich des Mikrotiterplatten-Photometers (ELISA-Readers) vornehmen.  
Falls diese Eichung aus technischen Gründen nicht möglich ist, muss nach der Messung der Extinktionswert der Position A1 von allen anderen Extinktionswerten abgezogen werden, um einwandfreie Ergebnisse zu erzielen!

Extinktion aller Kavitäten bei **450 nm** messen und die Messwerte der Kontrollen und Proben in das Ergebnisblatt eintragen.

Eine **bichromatische** Messung mit der Referenzwellenlänge **620 nm** wird empfohlen.

Falls Doppel- oder Mehrfachbestimmungen durchgeführt wurden, den **Mittelwert der Extinktionswerte** berechnen.

## 9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

---

### 9.1. Testgültigkeitskriterien

Der Test wurde richtig durchgeführt, wenn er folgende Kriterien erfüllt:

- **Substrat-Leerwert** in A1: Extinktion < **0,100**
- **Negativ Kontrolle** in B1: Extinktion < **0,200 und < cut-off**
- **Cut-off Kontrolle** in C1 und D1: Extinktionswerte **0,150 – 1,300**
- **Positiv Kontrolle** in E1: Extinktionswerte > **Cut-off**

Sind diese Kriterien nicht erfüllt, ist der Testlauf ungültig und muss wiederholt werden.

### 9.2. Messwertberechnung

Der Mittelwert der gemessenen Extinktionen der Cut-off Kontrolle muss berechnet werden.

Der cut-off wird durch Multiplikation des Mittelwertes der cut-off Kontrolle mit 2,5 errechnet.

Beispiel: 0.37 OD Cut-off Kontrolle + 0.39 OD Cut-off Kontrolle = 0.76:2 = 0.38

Cut-off Kontrollwert= 0.38

Berechneter cut-off = 0.38 x2,5 = 0.95

### 9.3. Interpretation der Ergebnisse

Patientenproben gelten als negativ, wenn der Extinktionswert unterhalb des berechneten Cut-offs liegt.

Patientenproben mit Extinktionswerten bis zu 20 % über dem berechneten Cut-off können nicht eindeutig als positiv angesehen werden → Grauzone

Es wird empfohlen, den Test 2 bis 4 Wochen mit einer frischen Patientenprobe zu wiederholen. Finden sich die Ergebnisse innerhalb der Grauzone, gilt die Probe als negativ.

Patientenproben gelten als positiv, wenn der Extinktionswert mindestens 20% höher liegt als der berechnete Cut-off.

#### 9.3.1. Ergebnisse in NovaTec-Einheiten [NTU]

$$\frac{\text{Mittlere Extinktion der Patientenprobe} \times 10}{\text{Cut-Off Kontrollwert}} = [\text{NovaTec-Einheiten} = \text{NTU}]$$

Beispiel:  $\frac{1.216 \times 10}{0.38} = 32 \text{ NTU (NovaTec -Einheiten)}$

Berechneter Cut-Off:	25 NTU
Grauzone:	25 – 30 NTU
Negativ:	<25 NTU
Positiv:	>30 NTU

Der Grenzwert von Candida albicans IgG wurde so festgelegt, dass die meisten der getesteten Blutspenderserien eine negative bzw. grenzwertige Befundung erhalten. Positive IgG-Befunde können somit als Hinweis auf eine aktive Infektion bewertet werden, sie stellen keinen generellen Durchseuchungstiter dar. Sollen bereits mäßig erhöhte Antikörpertiter als positiv erkannt werden, kann zur Interpretation der Ergebnisse auch ein Grenzwert von 10-25 NTU zugrunde gelegt werden. Hierbei ist jedoch unbedingt zu beachten, dass Durchseuchungstiter dann nicht mehr vollständig ausgeblendet werden. Ein serologisch positiver Befund ist dann äußerst kritisch zu bewerten, insbesondere wenn das klinische Bild und/oder Ergebnisse anderer Nachweismethoden nicht vorliegen.

## 10. TESTMERKMALE

---

### 10.1. Präzision

<b>Interassay</b>	<b>n</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Vk (%)</b>
Pos. Serum	20	18	5.1
<b>Intraassay</b>	<b>n</b>	<b>Mittelwert</b>	<b>Vk (%)</b>
Pos. Serum	8	1.0	4.3

## **10.2. Diagnostische Spezifität**

Die diagnostische Spezifität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Tests, ein negatives Ergebnis bei Fehlen des spezifischen Analyten zu liefern. Sie ist >95 %.

## **10.3. Diagnostische Sensitivität**

Die diagnostische Sensitivität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Tests, ein positives Ergebnis bei Vorhandensein des spezifischen Analyten zu liefern. Sie ist 93 %.

## **10.4. Interferenzen**

Hämolytische, lipämische und ikterische Proben ergaben bis zu einer Konzentration von 10 mg/ml für Hämoglobin, von 5 mg/ml Triglyceride und von 0,2 mg/ml für Bilirubin keine Interferenzen im vorliegenden ELISA.

**Einweis:** Die Ergebnisse beziehen sich auf die untersuchten Probenkollektive; es handelt sich nicht um garantierte Spezifikationen.

## **11. GRENZEN DES VERFAHRENS**

Kontamination der Proben durch Bakterien oder wiederholtes Einfrieren und Auftauen können zu einer Veränderung der Messwerte führen. Die Diagnose einer Infektionskrankheit darf nicht allein auf der Basis des Ergebnisses einer Bestimmung gestellt werden. Die anamnestischen Daten sowie die Symptomatologie des Patienten müssen zusätzlich zu den serologischen Ergebnissen in Betracht gezogen werden. Bei Immunsupprimierten und Neugeborenen besitzen die Ergebnisse der serologischen Tests nur einen begrenzten Wert.

## **12. SICHERHEITSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE**

- Gemäß Art. 1 Abs. 2b der EU-Richtlinie 98/79/EG legt der Hersteller die Zweckbestimmung von In-vitro-Diagnostika fest, um deren Eignung, Leistung und Sicherheit sicherzustellen. Daher sind die Testdurchführung, die Information, die Sicherheitsmaßnahmen und Warnhinweise in der Gebrauchsanweisung strikt zu befolgen. Bei Anwendung des Testkits auf Diagnostika-Geräten ist die Testmethode zu validieren. Jede Änderung am Aussehen, der Zusammensetzung und der Testdurchführung sowie jede Verwendung in Kombination mit anderen Produkten, die der Hersteller nicht autorisiert hat, ist nicht zulässig; der Anwender ist für solche Änderungen selbst verantwortlich. Der Hersteller haftet für falsche Ergebnisse und Vorkommnisse aus solchen Gründen nicht. Auch für falsche Ergebnisse aufgrund von visueller Auswertung wird keine Haftung übernommen.
- Nur für in-vitro-Diagnostik.
- Alle verwendeten Bestandteile menschlichen Ursprungs sind auf Anti-HIV-AK, Anti-HCV-AK und HBsAG nicht-reakтив getestet. Dennoch sind alle Materialien als potentiell infektiös anzusehen und entsprechend zu behandeln.
- Reagenzien und Mikrotiterplatten unterschiedlicher Chargen nicht untereinander austauschen.
- Keine Reagenzien anderer Hersteller zusammen mit den Reagenzien dieses Testkits verwenden.
- Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Nur saubere Pipettenspitzen, Dispenser und Labormaterialien verwenden.
- Verschlusskappen der einzelnen Reagenzien nicht untereinander vertauschen.
- Flaschen sofort nach Gebrauch fest verschließen, um Verdunstung und mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
- Nach dem ersten Öffnen Konjugat- und Standardfläschchen vor weiterem Gebrauch auf mikrobielle Kontamination prüfen.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontamination und falsch erhöhten Resultaten Patientenproben und Konjugat sorgfältig in die Kavitäten pipettieren.
- Der NovaLisa™ ELISA ist nur für die Anwendung durch Fachpersonal vorgesehen, welches die Arbeitstechniken einwandfrei beherrscht.

**WARNUNG:** Bronidox L zeigt in der verwendeten Konzentration nahezu keine toxikologischen Risiken an Haut bzw. Schleimhaut.

**WARNUNG:** Schwefelsäure reizt Augen und Haut! Nach Berührung mit den Augen gründlich mit Wasser spülen und einen Arzt aufsuchen.

## **12.1. Entsorgungshinweise**

Chemikalien und Zubereitungen sind in der Regel Sonderabfälle. Deren Beseitigung unterliegt den nationalen abfallrechtlichen Gesetzen und Verordnungen. Die zuständige Behörde informiert über die Entsorgung von Sonderabfällen.

## **13. BESTELLINFORMATIONEN**

Produktnummer: CANG0060      Candida albicans IgG-ELISA (96 Bestimmungen)

## 1. INTRODUCTION

Candida albicans est une levure actuellement ubiquitaire comme l'ensemble des mycètes appartenant à la famille des Ascomycota. C'est un germe pathogène facultatif appartenant à la flore microbienne normale de la peau et des muqueuses. A coté de la forme levure qui est principalement observée lors des infections superficielles, une forme pseudomycélienne présente une morphologique différente chez Ascomycota. La forme pseudomycélienne est généralement retrouvée dans les mycoses invasives. Bien que non pathogène chez les humains en bonne santé, ce champignon peut être la cause d'infections opportunistes chez ceux qui sont affectés de troubles variés, et sous traitement intensif par des antibiotiques à large spectre ou des immunsupresseurs. C.albicans est responsable d'environ à 90% des candidoses. C'est une infection aiguë, superficielle ou subaiguë, invasive. Les infections aiguës provoquées ce mycète peuvent être responsable de lésions buccales, du vagin, de la peau et des ongles. Les infections subaiguës peuvent affecter les bronches, les poumons, le cœur ou être responsable de méningites. Chez les patients d'immunodéprimés présentant une immunodéficience cellulaire, comme, les personnes atteintes du SIDA, C.albicans peut entraîner des nécroses graves des tissus infectés.

Espèces	Symptômes	Complications	Mécanisme d'Infection
Candida albicans	Le type de lésion est variable et change en fonction du site infecté par C.albicans. Les infections orales montrent par exemple des lésions blanchâtres typiques, alors que la toux est observée dans les candidoses bronchiques, comme symptôme le plus caractéristique	Sepsis	Endogène: Habituellement les candidoses sont dues à un déséquilibre de la flore humaine normale. Exogène: Transmission entre individus: Infection des nouveaux-nés au moment de la naissance; transmission par l'équipement hospitalier non stérile

### Détection:

- Microscopie: Coloration de Gram, isolement du germe par culture
- Sérologie: Détection des anticorps spécifiques par ELISA

## 2. UTILISATION PRÉVUE

L'ELISA d'IgG de Candida albicans de NovaTec est prévu pour la détermination qualitative des anticorps IgG contre Candida albicans en sérum humain ou plasma (citrate).

## 3. PRINCIPE DE L'ANALYSE

La détermination immunoenzymatique qualitative des anticorps IgG contre Candida albicans est basée sur la technique d'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

Des trous dans les bandes du plaque micrititre sont recouverts d'antigènes de Candida albicans pour attacher les anticorps correspondants du spécimen. Après le lavage des trous ayant pour but d'enlever l'échantillon détaché, l'anti-humain IgG conjugué à HRP (horseradish peroxidase) est ajouté. Ce conjugué s'attache aux anticorps spécifiques pour Candida albicans. Le complexe immun constitué par le conjugué attaché est visualisé en ajoutant le substrat de Tetramethylbenzidine (TMB) qui donne un produit de réaction bleu. L'intensité de ce produit est proportionnelle à la quantité d'anticorps IgG spécifiques pour Candida albicans dans le spécimen. De l'acide sulfurique est ajouté pour arrêter la réaction. Ceci produit une couleur jaune. L'absorbance à 450 nm est lue en utilisant un lecteur plaque micrititre (microwell plate reader) d'ELISA.

## 4. MATÉRIAUX

### 4.1. Réactifs fournis

- **Puits recouverts de Candida albicans (IgG):** 12 bandes cassables contenant 8 trous recouvertes d'antigène de Candida albicans; en sachets d'aluminium refermables.
- **Diluant de l'échantillon IgG \*\*\* :** 1 bouteille contenant 100 ml d'amortisseur pour la dilution de l'échantillon ; pH  $7.2 \pm 0.2$  ; coloré jaune ; prêt à utiliser ; couvercle blanc.
- **Solution d'Arrêt :** 1 bouteille contenant 15 ml d'acide sulfurique, 0.2 mol/l ; prêt à utiliser ; couvercle rouge.
- **Solution de lavage (20x concentré.) \*** : 1 bouteille contenant 50 ml d'un amortisseur 20-fois concentré (pH  $7.2 \pm 0.2$ ) pour laver les trous ; couvercle blanc.
- **Conjugué anti-IgG Candida albicans\*\* :** 1 bouteille contenant 20 ml d'anticorps de lapin conjugués à peroxydase contre l'IgG humain ; coloré bleu, prêt à utiliser ; couvercle noir.
- **Solution de substrat de TMB :** 1 bouteille contenant 15 ml 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) ; prêt à utiliser ; couvercle jaune.
- **Contrôle positif d'IgG Candida albicans\*\*\* :** 1 bouteille contenant 2 ml ; coloré jaune ; prêt à utiliser ; couvercle rouge.
- **Contrôle cut-off d'IgG Candida albicans\*\*\* :** 1 bouteille contenant 3 ml, coloré jaune; prêt à utiliser;couvercle vert.

- **Contrôle négatif d'IgG Candida albicans\*\*\*:** 1 bouteille contenant 2 ml ; coloré jaune ; prêt à utiliser ; couvercle bleu.

\* contient 0.1 % de Bronidox L après dilution

\*\* contient 0.2 % de Bronidox L

\*\*\* contient 0.1 % de Kathon

## **4.2. Matériaux fournis**

- 1 support de bande
- 1 couverture autocollante
- 1 protocole d'essai
- 1 plan de distribution et d'identification

## **4.3. Matériaux et équipement requis**

- lecteur plaque microtitre (microwell plate reader) d'ELISA, équipé pour le mesurage de l'absorbance à 450/620nm
- Incubateur 37°C
- Équipement manuel ou automatique pour rincer les puits
- Pipettes pour usage entre le 10 et 1000 µl
- Mélangeur Vortex
- Eau désionisée ou (fraîchement) distillée
- Tubes jetables
- Chronomètre

## **5. STABILITÉ ET STOCKAGE**

---

Les réactifs sont stables jusqu'à la date d'échéance indiquée sur l'étiquette une fois stockés à 2... 8°C.

## **6. PRÉPARATION DE RÉACTIF**

---

*Il est très important que tous les réactifs, échantillons et contrôles soient à la température de la pièce (20... 25°C) avant de commencer l'analyse!*

### **6.1. Bandes recouvertes cassables**

Les bandes cassables sont recouvertes d'antigène de Candida albicans et sont prêt à utiliser. Conserver à 2... 8°C. Après avoir détaché des bandes, les bandes restantes devraient tout de suite être refermées dans le sachet d'aluminium avec le désiccatant fourni et être conservées à 2... 8°C; stable jusqu'à la date d'échéance. Après premier usage stable jusqu'à la date d'échéance une fois stocké à 2... 8°C.

### **6.2. Conjugué anti-IgG adénovirus**

La bouteille contient 20ml d'une solution avec de la peroxydase de raifort anti-humaine-IgG, l'amortisseur, les stabilisateurs, les préservatifs et un colorant bleue inerte. La solution est prêt à utiliser. Conserver à 2... 8°C. Après premier usage stable jusqu'à la date d'échéance une fois stocké à 2... 8°C.

### **6.3. Contrôles**

Les bouteilles marquées avec contrôle positif, contrôle cut-off et contrôle négatif contiennent une solution de contrôle prêt à utiliser. Elle contient 0.1% Kathon et doit être stockée à 2... 8°C. Après premier usage stable jusqu'à la date d'échéance une fois stocké à 2... 8°C.

### **6.4. Diluant de l'échantillon IgG**

La bouteille contient 100ml d'un amortisseur de phosphate, des stabilisateurs, des préservatifs et un colorant jaune inerte. Elle est employée pour la dilution de l'échantillon du patient. Cette solution prêt à utiliser doit être stocké à 2... 8°C. Après premier usage stable jusqu'à la date d'échéance une fois stocké à 2... 8°C.

### **6.5. Solution de lavage (20x conc.)**

Le flacon contient 50 ml d'un tampon concentré, des détergents, des stabilisants et des conservateurs. Diluer la solution de lavage au 1/20<sup>ème</sup> ; par exemple 10 ml de la solution de lavage + 190 ml d'eau bidistillée récente et non contaminée. *Le tampon dilué est stable pendant cinq jours si conservé à +2...+8°C. Le tampon concentré reste stable jusqu'à la date de péremption s'il est conservé à +2...+8°C. Les cristaux dans la solution disparaissent en chauffant à 37°C dans un bain marie.*

### **6.6. Solution de substrat de TMB**

La bouteille contient 15ml d'un système de peroxyde de tetramethylbenzidine/hydrogen. Le réactif est prêt à utiliser et doit être stocké à 2... 8°C, loin de la lumière. *La solution devrait être sans couleur ou avoir une légère teinte bleue. Si le substrat se transforme en bleu, il a pu être contaminé et devrait être remplacé. Après premier usage stable jusqu'à la date d'échéance une fois stocké à 2... 8°C.*

### **6.7. Solution d'arrêt**

La bouteille contient 15ml d'une solution acide sulfurique de 0.2 M (R 36/38, S 26). Cette solution est prêt à utiliser et doit être stocké à 2... 8°C. *Après premier usage stable jusqu'à la date d'échéance une fois stocké à 2... 8°C.*

## **7. COLLECTION ET PRÉPARATION DES SPÉCIMENS**

---

Utilisez des échantillons de sérum ou plasma (citrate) humain pour cette analyse. Si l'analyse est exécutée dans un délai de 5 jours après la collection de l'échantillon, le spécimen devrait être maintenu à 2... 8°C ; autrement ils devraient être aliquotés et conservés surgelés (-20 à -70°C). Si les échantillons sont conservés congelés, mélangez les échantillons décongelés bien avant l'analyse. Évitez congélation et décongélation répétée.

L'inactivation par la chaleur des échantillons n'est pas recommandée.

### **7.1. Dilution de l'échantillon**

Avant l'analyse, tous les échantillons devraient être dilués 1+100 avec le diluant de l'échantillon IgG.

Diluer 10µl de l'échantillon avec 1ml du diluant de l'échantillon IgG dans des tubes pour obtenir une dilution 1+100 et mélanger celle-ci soigneusement par un Vortex.

## **8. PROCÉDÉ D'ANALYSE**

---

### **8.1. Préparation d'analyse**

Veuillez lire le protocole de l'analyse soigneusement **avant d'exécuter l'analyse**. La fiabilité des résultats dépend de l'adhérence stricte au protocole de l'analyse comme décrit. La technique de dosage suivante a été validée uniquement pour une procédure manuelle. Si le dosage doit être effectué sur un automate, nous conseillons d'augmenter le nombre d'étapes de lavage de trois à cinq et le volume de la solution de lavage de 300 à 350 µl. Avant de commencer l'analyse, le plan de distribution et d'identification pour tous les spécimens et contrôles devrait être soigneusement établi sur la feuille de résultat fournie dans le kit. Choisissez le nombre requis de bandes ou de puits microtires et insérez-les dans le support.

Veuillez assigner au moins :

1 puits	(par exemple A1)	pour le blanc substrat,
1 puits	(par exemple B1)	pour le contrôle négatif
2 puits	(par exemple C1+D1)	pour le contrôle cut-off et
1 puits	(par exemple E1)	pour le contrôle positif.

*C'est recommandé de déterminer les contrôles et les échantillons du patient deux fois, si nécessaire.*

Exécutez toutes les étapes de l'analyse dans l'ordre donné et sans délai entre les étapes.

Une pointe de pipette propre et jetable devrait être employée pour aliquoter chaque contrôle et échantillon.

Ajuster l'incubateur à 37° ± 1°C.

1. Pipettez 100µl de contrôles et les échantillons dilués dans leurs puits respectifs. Gardez le puits A1 pour le substrat blanc.
2. Couvrez les puits de couvertures autocollantes.
3. **Incuber pour 1 heure ± 5 minutes à 37±1°C.**
4. Quand l'incubation a été accomplie, enlevez la couverture, aspirez le contenu des puits et lavez chaque puits trois fois avec 300µl de solution de lavage. Évitez les débordements des puits de réaction. Le temps de trempage entre chaque cycle de lavage devrait être > 5sec. À la fin, enlevez soigneusement le fluide restant en tapant les bandes sur des papiers en tissu avant la prochaine étape !

*Note : Le lavage est décisif ! Un lavage insuffisant peut mener à une précision faible et à des valeurs d'absorbance faussement élevées.*

5. Pipettez 100µl du conjugué anti-IgG Candida albicans dans tous les puits sauf le puits blanc (par exemple A1). Fermez avec la couverture autocollante.
6. **Incuber pendant 30 minutes à la température de la pièce.** *Ne pas exposer à la lumière du soleil directe.*
7. Répétez l'étape numéro 4.
8. Pipetter 100µl de la solution de substrat de TMB dans tous les puits.

9. **Incuber pendant exactement 15 minutes à la température de la pièce dans l'obscurité.**

10. Pipetter 100µl de la solution d'arrêt dans tous les puits dans le même ordre et à la même vitesse que pour la solution de substrat de TMB.

*N'importe quelle couleur bleue développée pendant l'incubation se transforme en jaune.*

*Note : Des échantillons de patients fortement positifs peuvent causer des précipités foncés du chromogène ! Ces précipités peuvent influencer les valeurs mesurées de la densité optique. Il est recommandé de diluer l'échantillon avec la solution physiologique de chlorure de sodium, par exemple 1+1. Ensuite diluer l'échantillon 1+100 avec l'amortisseur et multiplier les résultats en NTU (NovaTec units) par 2.*

11. Mesurer l'absorption du spécimen à 450/620nm dans un délai de 30 minutes après l'addition de la solution d'arrêt.

### **8.2. Mesurage**

Ajuster le lecteur plaque microtire (microwell plate reader) d'ELISA à **zéro** en utilisant le **substrat blanc dans le puits A1**.

*Si - pour raisons techniques - le lecteur d'ELISA ne peut pas être ajusté à zéro en utilisant le substrat blanc dans le puits A1, soustraire la valeur d'absorption du puits A1 de toutes les autres valeurs d'absorption mesurées afin d'obtenir des résultats fiables !*

**Mesurer l'absorption** de tous les puits à **450 nm** et enregistrer les valeurs d'absorption pour chaque contrôle et échantillon de patient dans le plan de distribution et d'identification.

*Une lecture bichromatique de longueur d'onde employant 620 nm comme longueur d'onde de référence est recommandée.*

En cas de plusieurs mesurages, calculer les **valeurs moyennes d'absorption** de tous les résultats.

## **9. RÉSULTATS**

---

### **9.1. Critères De Validité**

Afin qu'une analyse soit considérée valide, les critères suivants doivent être respectés :

- **Blanc Substrat** dans A1 : Valeur d'absorbance < **0,100**.
- **Contrôle négatif** dans B1 : Valeur d'absorbance < **0,200 et < cut-off**
- **Contrôle seuil (cut-off)** dans C1 et D1: Valeur d'absorbance **0,150 – 1,30**
- **Contrôle positif** dans E1 : Valeur d'absorbance >**contrôle seuil (cut-off)**.

Lorsque ces critères ne sont pas remplis, le test n'est pas valide et doit être recommencé.

### **9.2. Calcul des résultats**

La valeur moyenne d'absorbance du contrôle de la valeur seuil doit être calculée.

La valeur seuil est calculée en multipliant la valeur du contrôle de la valeur seuil par 2.5.

Par exemple :

Valeur d'absorbance du contrôle de la valeur seuil 0.39 + valeur d'absorbance du contrôle de la valeur seuil 0.37 = $0.76 / 2 = 0.38$

Valeur du contrôle de la valeur seuil (moyenne) = 0.38

Valeur seuil calculée =  $0.38 \times 2.5 = 0.95$

### **9.3. Interprétation des résultats**

Les échantillons sont considérés comme négatifs si la valeur d'absorbance est plus basse que la valeur seuil calculée.

Les échantillons avec une valeur d'absorbance jusqu'à 20% au dessus de la valeur seuil calculée ne doivent pas être considérés comme clairement positifs.

→ zone grise

Il est recommandé de lancer un nouveau test après 2 à 4 semaines avec un échantillon frais. Si les résultats du second test sont à nouveau dans la zone grise ils doivent être considérés comme négatifs.

Les échantillons sont considérés comme positifs si la valeur d'absorbance est supérieure à plus de 20% de la valeur seuil calculée.

#### **9.3.1. Résultats en unités NovaTec**

Valeur (moyenne) d'absorption du patient x 10 = [ unités NovaTec = NovaTec units= NTU ]  
« cut-off »

Exemple :  $\frac{1.786 \times 10}{0.38} = 47 \text{ NTU}$

« Cut-off » :	25	NTU
Zone grise :	25 - 30	NTU
Négatif :	< 25	NTU
Positif :	> 30	NTU

La valeur limite des NovaLisa Candida albicans IgG a été établie de sorte plupart des donneurs de sérum testés obtiennent un résultat négatif ou limite. Des résultats positifs peuvent ainsi être évalués comme l'indication d'une infection active, ils ne constituent pas un titre général d'endémie. Dans le cas où l'on détecterait des titres déjà modérément élevés, interprétés comme étant des résultats positifs, on peut aussi appliquer un intervalle limite de 10-25 U (intervalle borderline). A ce sujet, on doit toutefois observer de façon inconditionnelle que des titres dus à une séroprévalence ne sont plus complètement occultés. C'est la raison pour laquelle un résultat sérologique positif doit être examiné de façon très critique, notamment en l'absence de tableau clinique et/ou des résultats d'autres méthodes de détection.

## **10. CARACTÉRISTIQUES D'EXÉCUTION**

---

### **10.1. Précision**

<u>Inter-analyse</u>	<u>n</u>	<u>moyenne</u>	<u>cv (%)</u>
Sérum pos.	20	18	5.1
<u>Intra-analyse</u>	<u>n</u>	<u>moyenne</u>	<u>cv (%)</u>
Sérum pos.	8	1.0	4.3

### **10.2. Spécificité diagnostique**

La spécificité diagnostique est définie comme la probabilité d'obtenir d'un résultat négatif en l'absence d'un analyte spécifique. Elle est >95 %.

### **10.3. Sensibilité diagnostique**

La sensibilité diagnostique est définie comme la probabilité d'obtenir d'un résultat positif en présence d'un analyte spécifique. Elle est supérieure à 93 %.

## **10.4. Interférence**

Aucune interférence n'a été observée sur des sérum hémolytiques, lipémiques ou ictériques pour des concentrations allant jusqu'à 10 mg/ml d'hémoglobine, 5 mg/ml de triglycérides et 0.2 mg/ml de bilirubine.

Ces résultats s'appuient sur les groupes d'échantillons étudiés ; il n'agit pas de caractéristiques techniques garanties.

## **11. LIMITATIONS DU PROCÉDÉ**

Une contamination bactérienne ou des cycles gel-dégel répétés du spécimen peuvent affecter les valeurs d'absorption. Le diagnostic d'une maladie infectieuse ne devrait pas être établi sur la base du résultat d'une seule analyse. Un diagnostic précis devrait prendre en considération l'histoire clinique, la symptomatology ainsi que les données sérologiques.

Les données sérologiques sont de valeur limité dans le cas des patients immunocompromis et des nouveaux-nés.

## **12. PRÉCAUTIONS ET AVERTISSEMENTS**

- En accord avec l'article 1 paragraphe 2b de la directive européenne 98/79/EC, l'utilisation des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro est destinée par le fabricant à garantir le bien-fondé, les performances et la sécurité du produit. Par conséquent, la procédure de dosage, l'information, les précautions et mises en garde de la notice d'emploi, doivent être suivies de façon stricte. L'utilisation de ces trousse avec des automates ou dispositifs similaires doit être validée. Aucun changement de la conception, composition et procédure de dosage, ainsi que l'utilisation avec d'autres produits non approuvés par le fabricant, ne sont autorisés ; seul l'utilisateur est responsable de tels changements. Le fabricant n'est pas responsable des faux résultats et des incidents dus à ces motifs. Le fabricant n'est pas responsable des résultats fournis par analyse visuelle des échantillons des patients.
- Uniquement pour diagnostic in vitro.
- Tous les composants d'origine humaine utilisés pour la fabrication de ces réactifs ont été analysés et ont été trouvés non réactifs en Ag HBs, en anticorps anti-VHI 1 et 2 et en anticorps anti-VHC. Néanmoins, tous les produits doivent être considérés et traités comme étant potentiellement infectieux.
- Ne pas échanger les réactifs ou les barrettes provenant de différents lots de production.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres fabricants avec les réactifs de cette trousse.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Utiliser seulement des embouts de pipette, des distributeurs et du matériel de laboratoire propres.
- Ne pas échanger les bouchons des flacons, pour éviter la contamination croisée.
- Fermer soigneusement les flacons après utilisation pour éviter l'évaporation et la contamination microbienne.
- Avant une nouvelle utilisation, vérifier les flacons de conjugué et de contrôle, déjà utilisés, pour exclure une contamination microbienne.
- Pour éviter la contamination croisée et des résultats faussement élevés, introduire les échantillons de patients et le conjugué exactement au fond des puits sans éclabousser.
- Le NovaLisa™ ELISA est uniquement destiné à l'utilisation par un personnel compétent, maîtrisant parfaitement les techniques de travail.

**AVERTISSEMENT :** Dans la concentration utilisée, Bronidox L ne pose pratiquement aucun risque toxicologique lors du contact avec la peau et les membranes muqueuses !

**AVERTISSEMENT :** L'acide sulfurique irrite les yeux et la peau. Garder hors de la porté des enfants. Lors du contact avec les yeux, rincer soigneusement avec de l'eau et consulter un médecin !

### **12.1. Mesures d'élimination**

Les résidus de réactifs et des préparations sont considérés comme de déchets potentiellement dangereux. L'élimination de ces déchets est soumise à des réglementations nationales et locales. Contacter les autorités locales ou les sociétés spécialisées pour obtenir des conseils sur l'élimination des déchets dangereux.

## **13. INFORMATION DE COMMANDES**

Numéro de Produit : CANG0060      Candida albicans IgG-ELISA (96 déterminations)

## 1. INTRODUZIONE

Candida albicans è una forma di lievito ubiquitaria che appartiene alla famiglia dei ascomiceti. È un agente patogeno facoltativo che appartiene alla flora microbica normale della pelle e della mucosa. Oltre alla forma del lievito che compare principalmente con le infezioni superficiali, esiste un'altra forma morfologica detta pseudomicelia. La pseudomicelia compare prevalentemente nelle micosi invasive. Anche se non patogeno negli esseri umani in buona salute il fungo può essere opportunitista in quelli che soffrono di varie patologie ed in quelli trattati intensivamente con antibiotici a vasto-spettro o con trattamenti immunosoppressivi. La candidosi è causata per circa il 90% dei casi dalla Candida albicans. È un'infezione acuta, superficiale o sub-acuta, invasiva. Le infezioni acute possono produrre lesioni nella bocca, nella vagina, nella pelle e nelle unghie. Le infezioni sub-acute possono interessare i bronchi, i polmoni, il cuore o le meningi. Nei pazienti immunodepressi, per esempio, i pazienti affetti da AIDS, la Candida albicans può causare gravi necrosi dei tessuti infettati.

Specie	Sintomi	Complicazioni	Meccanismo di Infezione
Candida albicans	Il tipo di lesione varia a seconda della localizzazione dell'infezione di C. albicans. Le infezioni orali per esempio mostrano le tipiche formazioni color bianco-crema laddove nelle candidosi bronchiali la tosse è il sintomo più caratteristico	Sepsi	Endogena: generalmente la candidosi è dovuta ad una aumentata sensibilità verso la normale flora microbica. Esogena: Trasmissione tra individui: Infezione dei neonati attraverso il canale natale; trasmissione tramite attrezzature ospedaliere non sterili.

### Diagnosi:

- Microscopia: colorazione di Gram, isolamento dell'organismo in culture
- Sierologia: Rilevazione degli anticorpi specifici tramite ELISA

## 2. USO PREVISTO

Il NovaTec Candida albicans IgG ELISA è un kit per la determinazione qualitativa degli anticorpi specifici della classe IgG per Candida albicans nel siero o plasma (citrato) umano.

## 3. PRINCIPIO DEL TEST

La determinazione qualitativa degli anticorpi IgG per Candida albicans si basa sul principio ELISA.

I pozzetti delle micropiastre contengono una fase solida con antigeni specifici della Candida albicans. Anticorpi specifici nel campione si legano agli antigeni immobilizzati nei pozzetti. Gli anticorpi del coniugato (perossidasi di rafano-anticorpi anti-IgG umani) si legano ai complessi antigene (fase solida)-anticorpo (paziente) nei campioni positivi. Questi complessi vengono evidenziati da una colorazione blu dopo l'incubazione con la soluzione TMB. L'intensità di questa colorazione è direttamente proporzionale alla quantità di anticorpi specifici per Candida albicans di classe IgG presenti nel campione. Fermando la reazione enzimatica con acido solforico si causa un cambiamento di colore dal blu al giallo che può essere misurato facilmente con un fotometro per l'ELISA a 450 nm.

## 4. MATERIALI

### 4.1. Reagenti forniti

- **Micropiastre con antigeni della Candida albicans (IgG):** 12 strisce divisibili in 8 pozzetti, con adesi antigeni della Candida albicans; dentro una busta d'alluminio richiudibile.
- **Tampone diluente\*\*\*:** 1 flacone contenente 100 ml di tampone per diluire i campioni; pH 7.2 ± 0.2; color giallo; pronto all'uso; tappo bianco.
- **Soluzione stop:** 1 flacone contenente 15 ml di acido solforico, 0.2 mol/l, pronto all'uso; tappo rosso.
- **Tampone di lavaggio (20x conc.)\*:** 1 flacone contenente 50 ml di un tampone concentrato 20 volte per il lavaggio dei pozzetti; pH 7.2 ± 0.2; tappo bianco.
- **Coniugato Candida albicans anti IgG\*\*:** 1 flacone contenente 20 ml di anticorpi di coniglio anti-IgG umani, coniugati a perossidasi; color azzurro; pronto all'uso; tappo nero.
- **Soluzione TMB:** 1 flacone contenente 15 ml di 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina (TMB); pronto all'uso; tappo giallo.
- **Candida albicans IgG Controllo positivo\*\*\*:** 1 flacone da 2 ml; color giallo; tappo rosso; pronto all'uso.
- **Candida albicans IgG Controllo Cut-off\*\*\*:** 1 flacone da 3 ml; color giallo; tappo verde; pronto all'uso.
- **Candida albicans IgG Controllo negativo\*\*\*:** 1 flacone da 2 ml; color giallo; tappo blu; pronto all'uso.

\* contiene 0.1 % Bronidox L dopo diluizione

\*\* contiene 0.2 % Bronidox L

\*\*\* contiene 0.1 % Kathon

## **4.2. Accessori forniti**

- 1 pellicola adesiva
- 1 supporto per micropiastre
- 1 istruzione per l'uso
- 1 foglio di controllo

## **4.3. Materiali e attrezzi necessari**

- Fotometro per micropiastre con filtri da 450/620 nm
- Incubatore a 37°C
- Lavatore di micropiastre
- Micropipette con punte monouso (10, 100, 200, 1000 µl)
- Vortex-Mixer
- Provette monouso
- Supporto per provette
- Acqua deionizzata o distillata.
- Timer

## **5. MODALITÀ DI CONSERVAZIONE**

---

I reagenti devono essere conservati tra 2-8°C. Non usare i reagenti dopo la scadenza. La data di scadenza è stampata sull'etichetta di ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

## **6. PREPARAZIONE DEI REAGENTI**

---

*Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20-25°C) prima dell'uso!*

### **6.1. Micropiastre**

I pozzetti sono separabili. Contengono adesi antigeni inattivati della *Candida albicans*. I pozzetti, pronti all'uso, devono essere conservati tra 2-8°C. *Riporre i pozzetti non utilizzati nel sacchetto con il gel essiccatore di silice. Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2-8°C.*

### **6.2. Coniugato *Candida albicans IgG***

Il flacone contiene 20 ml di anticorpi anti-IgG umani coniugati a perossidasi di rafano, stabilizzanti, conservanti e un colorante inerte azzurro. *Una volta aperto, il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2-8°C.*

### **6.3. Controlli**

I flaconi dei controlli contengono di soluzione pronta all'uso. Contengono 0,1% Kathon. *Una volta aperta, il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2-8°C.*

### **6.4. Tampone diluente IgG**

Il flacone contiene 100 ml di tampone fosfato, stabilizzanti, conservanti e un colorante giallo inerte. La soluzione viene usata per diluire i campioni. *Una volta aperto, il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2-8°C.*

### **6.5. Tampone di lavaggio (20x conc.)**

Il flacone contiene 50 ml di un tampone concentrato, detergenti e conservanti. Il contenuto viene diluito con acqua deionizzata o distillata (1 + 19). Il tampone diluito è stabile fino 5 giorni se conservato a temperatura ambiente. *Se sono presenti cristalli, scioglierli a 37°C prima di diluire. Una volta aperto, il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2-8°C.*

### **6.6. Soluzione TMB**

Il flacone contiene 15 ml di 3,3'-5,5'-Tetrametilbenzidina (TMB) e perossido di idrogeno pronto all'uso. Conservare al buio. *La soluzione è incolore o celeste chiaro. Nel caso in cui diventasse blu significa che è contaminata e non può essere più usata. Una volta aperto, il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2-8°C.*

### **6.7. Soluzione Stop**

Il flacone contiene 15 ml di acido solforico, 0,2 mol/l (R36/38, S26), pronto all'uso. *Una volta aperto, il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2-8°C.*

## **7. PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI**

---

Usare campioni di siero o plasma (citrato) umano. Se il test viene fatto entro 5 giorni dal prelievo i campioni possono essere conservati tra 2-8°C. Altrimenti devono essere aliquotati e congelati tra -70...-20°C. Agitare bene i campioni scongelati prima di diluirli. *Evitare cicli ripetuti di congelamento/scongelamento.*

L'inattivazione dei campioni per mezzo del calore non è raccomandata.

## 7.1. Diluizione dei campioni

Prima del test, diluire i campioni 1 + 100 con tampone diluente IgG. Per esempio, pipettare nelle provette 10 µl di campione + 1 ml di tampone e mescolare bene (Vortex).

## 8. PROCEDIMENTO

---

### 8.1. Preparazione del test

Leggere bene le istruzioni prima di iniziare il dosaggio. Per ottenere risultati validi è indispensabile seguire esattamente le istruzioni. La seguente procedura è stata validata per l'esecuzione manuale. Per una esecuzione su strumentazione automatica si consiglia di incrementare il numero di lavaggi di 3 a 5 volte e il volume della soluzione di lavaggio da 300 a 350µl per evitare interferenze. Stabilire innanzitutto il piano di distribuzione ed identificazione dei campioni e controlli sul foglio di lavoro fornito con il kit. Inserire i pozzetti necessari nel supporto micropiastre.

Utilizzare almeno:

1 pozzetto	(es. A1)	per il bianco-substrato (blank)
1 pozzetti	(es. B1)	per il controllo negativo
2 pozzetti	(es. C1+D1)	per il controllo Cut-off
1 pozzetto	(es. E1)	per il controllo positivo.

*È consigliato effettuare ogni analisi in duplice.*

Eseguire il test nell'ordine stabilito dalle istruzioni, senza pause.

Utilizzare puntali nuovi e puliti per ogni campione e controllo.

Regolare l'incubatore a  $37^\circ \pm 1^\circ\text{C}$

1. Pipettare 100 µl di controllo e di campione diluito nei relativi pozzetti. Usare il pozzetto A1 per il bianco-substrato.
2. Coprire i pozzetti con la pellicola adesiva.
3. **Incubare 1 ora  $\pm 5$  min a  $37^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ .**
4. Al termine dell'incubazione, togliere la pellicola ed aspirare il liquido dai pozzetti. Successivamente lavare i pozzetti tre volte con 300 µl di tampone di lavaggio. Evitare che la soluzione trabocchi dai pozzetti. L'intervallo tra il lavaggio e l'aspirazione deve essere almeno di 5 sec. Dopo il lavaggio picchiettare delicatamente i pozzetti con l'apertura verso il basso su una carta assorbente per togliere completamente il liquido.

*Attenzione: Il lavaggio è una fase critica. Un lavaggio non accurato determina una cattiva precisione del test ed un innalzamento falsato delle densità ottiche.*

5. Pipettare 100µl di Coniugato Candida albicans anti-IgG in tutti i pozzetti, escludendo quello con il bianco-substrato (blank). Coprire i pozzetti con la pellicola adesiva.
6. **Incubare 30 min a temperatura ambiente ( $20^\circ \dots 25^\circ\text{C}$ ). Non esporre a fonti di luce diretta.**
7. Ripetere il lavaggio secondo punto 4.
8. Pipettare 100µl di Soluzione TMB in tutti i pozzetti.
9. **Incubare precisamente per 15 min a temperatura ambiente ( $20^\circ \dots 25^\circ\text{C}$ ) al buio.**
10. Pipettare 100µl di Soluzione Stop in tutti i pozzetti, nello stesso ordine della soluzione TMB. Durante l'incubazione il colore cambia dal blu al giallo.

*Attenzione: Campioni con un risultato positivo molto alto possono causare precipitati scuri del cromogeno! Questi precipitati influenzano la lettura delle densità ottiche. È consigliato diluire i campioni con soluzione fisiologica NaCl, esempio 1+1. Poi diluire normalmente 1 + 100 con tampone diluente IgG. Il risultato NTU viene moltiplicato per due.*

11. Misurare l'assorbanza di tutti i pozzetti a 450/620 nm entro 30 min dopo l'aggiunta della soluzione stop.

### 8.2. Misurazione

Regolare il fotometro per le micropiastre (ELISA-Reader) **a zero** usando il substrato-bianco (blank) **in A1**. Se, per motivi tecnici, non è possibile regolare il fotometro sottrarre l'assorbanza del bianco-substrato da tutti i valori delle altre assorbanze.

**Misurare l'assorbanza** di tutti i pozzetti a **450 nm** e inserire tutti i valori misurati nel foglio di lavoro.

*È raccomandato fare una misurazione delle densità ottiche a doppia lunghezza d'onda utilizzando i 620 nm come lunghezza di riferimento.*

Dove sono state misurate in doppio, calcolare **la media delle assorbanze**.

## **9. RISULTATI**

---

### **9.1. Validazione del test**

Il test è valido se risponde ai prossimi criteri:

- **Substrato bianco**      in A1:                        Valore di assorbanza < **0.100**
- **Controllo negativo**      in B1:                        Valore di assorbanza < **0.200** e < cut-off
- **Controllo Cut-off**      in C1 e D1:                        Valore di assorbanza **0.150 – 1.30**
- **Controllo positivo**      in E1:                                Valore di assorbanza >**Cut-Off**

Se non vengono soddisfatti questi criteri, il test non è valido e deve essere ripetuto.

### **9.2. Calcolo dei risultati**

Il valore medio dell'assorbanza di controllo del cut-off deve essere calcolato.

Il cut-off si calcola moltiplicando il valore di controllo del cut-off per 2,5.

Esempio:

Valore assorbanza controllo cut-off 0.39 + Valore assorbanza controllo cut-off 0.37 =  $0.76 / 2 = 0.38$

Valore (medio) controllo cut-off = 0.38

Cut-off calcolato =  $0.38 \times 2.5 = 0.95$

### **9.3. Interpretazione dei risultati**

I campioni sono considerati NEGATIVI se il valore dell'assorbanza è inferiore al cut-off calcolato.

I campioni con un valore di assorbanza superiore fino al 20% al cut-off calcolato non devono essere considerati come chiaramente positivi

→ zona grigia

Si raccomanda di ripetere ancora il test dopo 2 - 4 settimane con un nuovo campione. Se i risultati del secondo test sono ancora nella zona grigia il campione deve essere considerato NEGATIVO.

I campioni sono da considerare POSITIVI se il valore di assorbanza è maggiore di oltre il 20% rispetto al cut-off calcolato.

#### **9.3.1. Risultati in unità NovaTec [NTU]**

Assorbanza (media) del campione x 10 = [Unità NovaTec = NTU]  
Valore controllo cut-off

Esempio:  $\frac{1.216 \times 10}{0.38} = 32$  NTU (Unità NovaTec)

Cut-off calcolato: 25 NTU

Zona grigia: 25 – 30 NTU

Negativo: <25 NTU

Positivo: >30 NTU

Il valore limite di Candida albicans IgG è stato determinato in modo tale che per lo più dei sieri dei donatori di sangue testati ottengano un reperto negativo o liminare. I reperti IgG positivi possono essere quindi considerati come indicazione della presenza di un'infezione attiva, non rappresentano un titolo di infestazione generale. Se si desidera rilevare anche titoli anticorpali moderatamente elevati e interpretarli come reperti positivi, può essere impostato un ambito liminare di 10-25 NTU. In tal caso, tuttavia, occorre assolutamente osservare che i titoli dovuti a sieroprevalenza non vengono più annullati completamente. Pertanto, occorre considerare molto criticamente i reperti sierologici positivi, in particolare se non è possibile fare riferimento al quadro clinico e/o a reperti ottenuti con metodi diversi.

## **10. CARATTERISTICHE DEL TEST**

---

### **10.1. Precisione**

<b>Interdosaggio</b>	<b>n</b>	<b>Media</b>	<b>Cv (%)</b>
Siero pos.	20	18	5.1

<b>Intradosaggio</b>	<b>n</b>	<b>Media</b>	<b>CV (%)</b>
Siero pos.	8	1.0	4.3

### **10.2. Specificità diagnostica**

La specificità diagnostica è la probabilità del test di fornire un risultato negativo in assenza di anticorpi specifici. La specificità diagnostica è pari a >95 %.

### **10.3. Sensibilità diagnostica**

La sensibilità diagnostica è la probabilità del test di fornire un risultato positivo in presenza di anticorpi specifici. La sensibilità diagnostica è pari a 93 %.

## **10.4. Possibili interferenze**

Campioni emolitici, lipidici ed itterici contenenti fino a 10 mg/mL di emoglobina, 5 mg/mL di trigliceridi e 0,2 mg/mL di bilirubina non hanno presentato fenomeni di interferenza nel presente test.

Nota: I risultati si riferiscono al gruppo di campioni realizzati, questi non sono specifiche garantite.

## **11. LIMITAZIONI**

Una contaminazione da microorganismi o ripetuti cicli di congelamento-scongelamento possono alterare i valori delle assorbance. La diagnosi di una malattia infettiva non deve essere fatta soltanto sulla risultanza di un unico test. È importante considerare anche l'anamnesi ed i sintomi del paziente. I risultati del test da pazienti immunosoppressi e neonati hanno un valore limitato.

## **12. PRECAUZIONI E AVVERTENZE**

- In ottemperanza all'articolo 1, paragrafo 2 della direttiva Europea 98/79/EC, l'uso dei diagnostici medici in vitro è inteso da parte del produttore ad assicurare la congruenza, le prestazioni e la sicurezza del prodotto. Di conseguenza la procedura analitica, le informazioni, le precauzioni e le avvertenze contenute nelle istruzioni per l'uso devono essere seguite scrupolosamente. L'uso dei kit con analizzatori e attrezzature simili deve essere previamente convalidato. Qualunque cambiamento nello scopo, nel progetto, nella composizione o struttura e nella procedura analitica, così come qualunque uso dei kit in associazione ad altri prodotti non approvati dal produttore non è autorizzato; l'utilizzatore stesso è responsabile di questi eventuali cambiamenti. Il produttore non è responsabile per falsi risultati e incidenti che possano essere causati da queste ragioni. Il produttore non è responsabile per qualunque risultato ottenuto attraverso esame visivo dei campioni dei pazienti.
- Solo per uso diagnostico in-vitro.
- Tutti i componenti di origine umana sono stati trovati non reattivi con Anti-HIV-Ab, Anti-HCV-Ab e HBsAg. Nonostante ciò e tutti i materiali devono comunque essere considerati potenzialmente contagiosi e infettivi.
- Non scambiare reagenti e micropiastre di lotti diversi.
- Non utilizzare reagenti di altri produttori insieme con i reagenti di questo kit.
- Non usare dopo la data di scadenza.
- Utilizzare soltanto attrezzatura pulita.
- Non scambiare i tappi dei flaconi.
- Richiudere i flaconi immediatamente dopo l'uso per evitare la vaporizzazione e contaminazione.
- Una volta aperti e dopo relativo stoccaggio verificare i reagenti per una loro eventuale contaminazione prima dell'uso.
- Per evitare contaminazioni crociate e risultati erroneamente alti pipettare i campioni e reagenti con molta precisione nei pozzetti.
- Il NovaLisa™ ELISA è previsto soltanto per essere impiegato da parte di personale specializzato che conosce perfettamente le tecniche di lavoro.

**ATTENZIONE:** Bronidox L, nella concentrazione usata, mostra quasi assenza di tossicità sulla pelle e sulle mucose.

**ATTENZIONE:** L'acido solforico irrita occhi e pelle! Dopo il contatto sciacquare immediatamente e abbondantemente. Contattare un medico.

### **12.1. Smaltimento**

In genere tutte le sostanze chimiche vengono considerate rifiuti tossici. Lo smaltimento viene regolato da leggi nazionali. Per ulteriori informazioni contattare l'autorità locale.

## **13. INFORMAZIONI PER GLI ORDINI**

Numero del prodotto: CANG0060 Candida albicans IgG-ELISA (96 determinazioni)

## 1. INTRODUCCIÓN

---

La Candida albicans es un hongo levaduriforme pleomorfo con doble dotación cromosómica (8 cromosomas). Es un organismo dimórfico que puede aparecer en forma de levadura (blastoconidia), en forma filamentosa o micelial (hifa y seudohifa). El hongo es facultativo patógeno y parte de la flora normal de la piel y de las mucosas. En el hombre sano, los granulocitos, macrófagos y linfocitos inhiben la invasión del huésped. Sobre todo cuando estas células cruciales están reducidas en el número y funcionamiento, aumenta el riesgo de una micosis provocada por Candida albicans. Los factores predisponentes son cambios en la flora bacteriana bajo tratamiento intensivo con antibióticos, cambios del sistema hormonal (p.e. por contraceptiva, embarazo) o alteraciones del metabolismo (p.e. diabetes mellitus), terapia con corticoides, tumores y enfermedades malignas del sistema hematopoyético y linfático como la inmunosupresión por cualquier causa (p.e. Medicamentos, VIH). Las infecciones por Candida albicans pueden ser de forma mucocutánea o se pueden manifestar en los órganos con posibilidad de dispersarse. Aproximadamente el 90 % de las micosis y el 70 % de las infecciones oportunistas de levaduras son provocados por la Candida albicans.

Especies	Vía de transmisión	Síntomas	Complicaciones
Candida albicans	Por regla general endógeno	Dependiendo del lugar de la infección  En infecciones orales p.e. placas blancas son típicas	sepsis

El hongo puede ser detectado por:

- Microscopia: con coloración de Gram
- Cultura

Serología: Detección de anticuerpos a través de ELISA.

## 2. USO PREVISTO

---

El enzimoinmunoensayo Candida albicans IgG de Nova Tec se utiliza para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG específicos contra Candida albicans en suero o plasma (citratado) humano.

## 3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

---

La determinación inmunoenzimática cualitativa de anticuerpos específicos contra Candida albicans se basa en la técnica ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay).

Las tiras de micropocillos que se usan como fase sólida están recubiertas con抗原os específicos de Candida albicans. Los anticuerpos existentes en la muestra se usan a los抗原os inmovilizados de la placa de microtitulación. El conjugado de anticuerpos IgG anti humano con peroxidasa de rábano, se une con los complejos抗igeno-anticuerpo en muestras positivas. Estos complejos inmunológicos desarrollan una coloración azul después de incubarlos con sustrato de tetrametilbenzidina (TMB). Finalmente se añade ácido sulfúrico para detener la reacción, causando un cambio de coloración de azul a amarillo. La densidad óptica se mide con un lector de ELISA a 450nm.

## 4. MATERIALES

---

### 4.1. Reactivos suministrados

- **Microtiras (IgG) recubiertas de抗igeno de Candida albicans:** 12 tiras de 8 pocillos rompibles, recubiertos con抗igenos de Candida albicans, en bolsa de aluminio.
- **Diluyente para IgG de la muestra\*\*\*:** 1 botella de 100ml de solución de tampón para diluir la muestra; pH  $7.2 \pm 0.2$ ; color amarillo; listo para ser utilizado; tapa blanca.
- **Solución de parada:** 1 botella de 15ml de ácido sulfúrico, 0.2mol/l, listo para ser utilizado; tapa roja.
- **Solución de lavado (20x conc.)\*:** 1 botella de 50ml de una solución de tampón 20x concentrado para lavar los pocillos; pH  $7.2 \pm 0.2$ ; tapa blanca.
- **Conjugado IgG anti-humano (Candida albicans)\*\*:** 1 botella de 20ml de conjugado de anticuerpos IgG anti-humano con peroxidasa; color azul; tapa negra; listo para ser utilizado.
- **Solución de sustrato de TMB:** 1 botella de 15ml 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB); listo para ser utilizado; tapa amarilla.
- **Control positivo de IgG (Candida albicans)\*\*\*:** 1 botella de 2ml; color amarillo; tapa roja; listo para ser utilizado.
- **Control cut-off de IgG (Candida albicans)\*\*\*:** 1 botella de 3ml; color amarillo; tapa verde; listo para ser utilizado.
- **Control negativo de IgG (Candida albicans)\*\*\*:** 1 botella de 2ml; color amarillo; tapa azul; listo para ser utilizado.

\* contiene 0.1% de Bronidox L después de diluir

\*\* contiene 0.2% Bronidox L

\*\*\* contiene 0.1% Catón

#### **4.2. Accesorios suministrados**

- 1 lámina autoadhesiva
- 1 soporte
- 1 hoja de instrucciones
- 1 hoja de resultados

#### **4.3. Materiales e instrumentos necesarios**

- Fotómetro con filtros de 450/620 nm
- Incubadora/cámara húmeda con termostato
- Dispositivo de lavado manual o automático
- Micropipetas con jeringuillas desechables (10, 100, 200, 1000 µl)
- Mezcladora Vortex
- Tubos de plástico desechables
- Gradilla para los tubos
- Agua destilada
- Cronómetro

### **5. ESTABILIDAD Y ALMACENAJE**

---

El test tiene que estar almacenado de 2...8°C. No usar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de las botellas y en el exterior.

### **6. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS**

---

*Todos los reactivos, las muestras y los controles tienen que estar a la temperatura ambiente (20...25°C) antes de ser utilizados!*

#### **6.1. Tiras reactivas**

Las tiras separables están recubiertas con antígenos de *Candida albicans*. Los pocillos listos para ser utilizados tienen que estar almacenados de 2...8°C. *Mantener los pocillos no utilizados en la bolsa de aluminio junto con el desecante y conservar de 2...8°C. El producto se conserva hasta la fecha de caducidad indicada.*

#### **6.2. Conjugado de IgG anti-humano (*Candida albicans*)**

La botella contiene 20ml de una solución de IgG anti-humano conjugada con peroxidasa de rábano, tampón, estabilizadores, conservante y un colorante azul inerte. La solución está lista para ser utilizada y tiene que estar almacenada de 2...8°C. *Después de la primera abertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2...8°C.*

#### **6.3. Controles**

Las botellas de los controles contienen de solución de control listas para ser utilizadas. Las soluciones tienen que estar almacenadas de 2...8°C y contienen 0.1% de Catón. *Después de la primera abertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2...8°C.*

#### **6.4. Tampón de dilución de IgG para la muestra**

La botella contiene 100ml de tampón de fosfato, estabilizadores, conservantes y un colorante amarillo inerte. La solución lista para ser utilizada ha de almacenarse entre 2...8°C. La solución se usa para diluir las muestras. *Después de la primera abertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2...8°C.*

#### **6.5. Solución para lavar (20x conc.)**

La botella contiene 50ml de tampón concentrado, detergentes y conservantes. El contenido se diluye con un litro de agua destilada (1+19). La solución diluida es estable 5 días a temperatura ambiente. *La cristalización en el concentrado desaparece al calentarla a 37°C y mezclarla bien antes de usarla. Despues de la primera abertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2...8°C.*

#### **6.6. Solución de TMB**

La botella contiene 15ml de una mezcla de tetrametilbenzidina con peróxido de hidrógeno. La solución lista para ser utilizada se tiene que almacenar entre 2...8°C protegida de la luz. *La solución es levemente azulada. En caso de contaminación cambia a una coloración azul más intensa no pudiendo ser utilizada en el ensayo.*

#### **6.7. Solución de parada**

La botella contiene 15ml de 0.2 M de ácido sulfúrico (R36/38, S26). La solución lista para ser utilizada se tiene que almacenar entre 2...8°C. *Despues de la primera abertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2...8°C.*

### **7. TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS**

---

Usar muestras de suero o plasma (citrato) humano. Si el ensayo se realiza dentro de 5 días después de la toma de sangre, las muestras pueden ser almacenadas de 2...8°C, en caso contrario hay que congelarlas (-20°C). Agitar bien las muestras descongeladas antes de diluirlas. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas.

No se recomienda la inactivación por calor de las muestras.

## 7.1. Dilución de las muestras

Antes del ensayo, las muestras tienen que estar diluidas en relación 1+100 con el tampón de dilución para la muestra de IgG, p.e. 10 $\mu$ l de la muestra con 1ml de tampón, mezclar bien con la mezcladora Vortex.

## 8. PROCEDIMIENTO

---

### 8.1. Preparación del ensayo

Por favor, leer cuidadosamente las instrucciones del ensayo **antes** de realizarlo. Para el buen funcionamiento de la técnica es necesario seguir las instrucciones. El siguiente procedimiento es válido para el método manual. Para excluir efectos de lavado en caso de utilizar los automáticos ELISA elevas el número de lavado de 3 a 5veces y el volumen de solución de lavado de 300  $\mu$ l a 350  $\mu$ l. Antes de comenzar, especificar exactamente la repartición y posición de las muestras y de los controles en la hoja de resultados suministrada. Usar la cantidad necesaria de tiras o pocillos en el soporte.

En este caso por lo menos

1 pocillo	(z.B. A1)	para el blanco,
1 pocillo	(z.B. B1)	para el control negativo,
2 pocillos	(z.B. C1+D1)	para el control cut-off y
1 pocillo	(z.B. E1)	para el control positivo

*Para mayor seguridad es necesario hacer doble ensayo de controles y muestras del paciente.*

Realizar el ensayo en el orden indicado y sin retraso.

Para cada paso de pipeteado en los controles y en las muestras, usar siempre puntas de pipeta de un solo uso.

Graduar la incubadora a 37 ± 1°C

1. Pipetear 100  $\mu$ l de controles y muestras en los pocillos respectivos. Dejar el pocillo A1 para el blanco.
2. Recubrir las tiras con los autoadhesivos suministrados.
3. Incubar **1 h ± 5 min a 37°C**.
4. Después de la incubación, retirar el autoadhesivo, aspirar el líquido de la tira y lavarla tres veces con 300 $\mu$ l de la solución de lavado. Evitar el rebosamiento de los pocillos. El tiempo entre cada lavado y cada aspiración tiene que ser por lo menos de 5 segundos. Para sacar el líquido restante de las tiras, es conveniente sacudirlas sobre papel absorbente.

*Nota: El lavado es muy importante! Un mal lavado provoca una mala precisión y resultados erróneamente aumentados!*

5. Pipetar 100 $\mu$ l de conjugado anti-IgG (Candida albicans) en cada pocillo con excepción del blanco. Cubrir con una lámina adhesiva.
6. **Incubar 30 min a la temperatura ambiente (20...25°C). Evitar la luz solar directa.**
7. Repetir el lavado como en el paso numero 4.
8. Pipetar 100 $\mu$ l de sustrato de TMB en todos los pocillos.
9. **Incubar exactamente 15 min en oscuridad a temperatura ambiente (20...25 C).**
10. Pipetar en todos los pocillos 100 $\mu$ l de la solución de parada en el mismo orden y mismo intervalo de tiempo como con el sustrato de TMB. *Toda coloración azul formada durante la incubación se convierte en amarilla.*

*Nota: Muestras que son altamente positivas pueden causar precipitados negros del cromógeno! Estos precipitados influyen en los valores de las mediciones. Se recomienda diluir las muestras del paciente con solución salina 1+1. Después, preparar la muestra diluida con el tampón de dilución para la prueba de IgG 1+100. En este caso, el resultado se multiplica por 2.*

11. Medir la extinción de la solución en cada pocillo con 450/620nm en un periodo de 30 min después de añadir la solución de parada.

### 8.2. Medición

Efectuar con ayuda del blanco en el pocillo **A1** la **calibración al cero** del fotómetro (lector de ELISA).

Para obtener resultados correctos, si la calibración no es posible por causas técnicas, hay que sustraer el valor de la extinción de la posición A1 del resto de los valores de extinción!

Medir la **extinción** de todos los pocillos con **450nm** y anotar los resultados de los controles y de las muestras en la hoja de resultados.

*Es aconsejable la medición bicromática a una longitud de onda de referencia de 620nm.*

Si se efectuaron análisis en duplicado o múltiples, hay que calcular **el promedio de los valores de extinción** de los pocillos correspondientes.

## **9. CALCULO DE LOS RESULTADOS**

---

### **9.1. Criterios de validez del ensayo**

El ensayo es válido si se cumplen los siguientes criterios:

▪ <b>Blanco</b>	en A1	extinción < 0.100
▪ <b>Control negativo</b>	en B1	extinción < 0.200 y < cut-off
▪ <b>Control cut-off</b>	en C1 y D1	extinción 0,150 – 1,30
▪ <b>Control positivo</b>	en E1	extinción >cut-off

Si estos criterios no se cumplen, la prueba no es válida y deberá repetirse.

### **9.2. Calculo del valor de la medición**

El valor medio de absorbancia del cut-off tiene que calcularse. Este se calcula multiplicando el valor del control cut-off por 2.5.

Ejemplo:

Valor de absorbancia del control cut-off 0.39 + Valor de absorbancia del control cut-off 0.37 = 0.76/2 = 0.38

Media del cut-off = 0.38

Cut-off calculado = 0.38 x 2.5 = 0.95

### **9.3. Interpretación de los resultados**

Las muestras se consideran NEGATIVAS si el valor de absorbancia está por debajo del valor de cut-off.

Las muestras que no estén un 20% por encima del valor del cut-off no deberían considerarse como claramente positivas, en cuyo caso deben de considerarse →Dudosas.

Se recomienda repetir el ensayo otra vez entre 2 - 4 semanas después con una muestra fresca. Si el resultado en el segundo ensayo es otra vez dudoso, se considera NEGATIVA.

Las muestras se consideran POSITIVAS si el valor de la absorbancia es un 20% mayor al valor calculado del cut-off.

#### **9.3.1. Resultados en unidades Nova Tec [NTU]**

$$\frac{\text{Paciente (media) valor de absorbancia} \times 10}{\text{cut-off}} = [\text{Unidades NovaTec} = \text{NTU}]$$

Ejemplo:  $\frac{1.216 \times 10}{0.38} = 32 \text{ NTU (Unidades NovaTec)}$

Cut-off calculado: 25 NTU

Zona gris: 25 – 30 NTU

Negativo: <25 NTU

Positivo: >30 NTU

El valor límite del Candida albicans IgG se estableció de tal modo que más de las muestras de suero de donantes de sangre comprobados obtuvieron un resultado negativo o de valor límite. Los resultados positivos de IgG pueden por tanto evaluarse como indicación de una infección activa, no constituyendo ningún título general de infestación.

Si los títulos de anticuerpos, ya moderadamente elevados, deberán detectarse e interpretarse como resultados positivos, también podría aplicarse una región límitrofe de 10 a 25 NTU. Sin embargo, en esta conexión, debe observarse incondicionalmente que los títulos que son debidos a la seroprevalencia ya no se blanquean completamente. Por lo tanto, un resultado serológico positivo deberá considerarse de manera muy crítica, especialmente si no se cuenta con el cuadro clínico o los resultados (o ambos) de otros métodos de detección.

## **10. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO**

---

### **10.1. Precisión**

<b>Inter ensayo</b>	<b>n</b>	<b>Promedio</b>	<b>CV (%)</b>
Suero pos.	20	18	5.1
<b>Intra ensayo</b>	<b>n</b>	<b>Promedio</b>	<b>CV (%)</b>
Suero pos.	8	1.0	4.3

### **10.2. Especificidad del ensayo**

La especificidad del ensayo se define como la probabilidad que tiene el ensayo de dar un resultado negativo en ausencia de la sustancia a analizar específicamente (>95 %).

### **10.3. Sensibilidad del ensayo**

La sensibilidad del ensayo se define como la probabilidad que tiene el ensayo de dar un resultado positivo en presencia del analítico específico (93 %).

### **10.4. Interferencias**

Las muestras lipémicas e ictéricas no mostraron interferencias con este equipo ELISA hasta una concentración de 5 mg/ml para triglicéridos y de 0,2 mg/ml para bilirrubina.

*Los resultados están basados en pruebas de ensayos querales: No se trata de especificaciones garantizadas.*

## **11. LIMITACIONES DEL ENSAYO**

Una contaminación de las muestras con bacterias, o una congelación y descongelación repetida pueden producir cambios en los valores de la extinción.

El diagnóstico de una infección no solamente se debe basar en el resultado del ensayo. Es necesario considerar la anamnesis y la sintomatología del paciente junto al resultado serológico. Estos resultados sólo tienen valor restringido en personas inmunodeprimidas o en neonatos.

## **12. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS**

- En cumplimiento con el artículo 1 párrafo 2b de la directiva europea 98/79/EC, la utilización de sistemas médicos para diagnóstico in vitro tiene la intención por parte del fabricante de asegurar la adecuación, realizaciones y seguridad del producto. Por lo tanto, el procedimiento, la información, las precauciones y los avisos de las instrucciones de uso han de ser seguidas estrictamente. La utilización de equipos con analizadores y equipamiento similar tiene que ser validada. No se autorizan cambios en el diseño, composición y procedimiento, así como cualquier utilización en combinación con otros productos no aprobados por el fabricante; el usuario debe hacerse responsable de estos cambios. El fabricante no responderá ante falsos resultados e incidentes debidos a estas razones. El fabricante no responderá ante cualquier resultado por análisis visual de las muestras de los pacientes.
- Solo para diagnóstico in vitro.
- Todos los componentes de origen humano han sido examinados y resultaron no reactivos a anticuerpos contra el VIH, VHC y HbsAG. No obstante, todos los materiales se deben considerar y tratar como potencialmente infecciosos.
- No intercambiar reactivos y placas de microtítulo de cargas diferentes.
- No usar reactivos de otro fabricante para este ensayo.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- Sólo usar recambios de pipetas, dispensadores y materiales de laboratorio limpios.
- No intercambiar las tapas de los diferentes reactivos.
- Para evitar la evaporación y una contaminación microbiana, cierre inmediatamente las botellas después de usarlas.
- Después de abrir las y posterior almacenaje, asegurarse de que no existe contaminación microbiana antes de seguir usándolas.
- Pipetear cuidadosamente las muestras y el conjugado en los pocillos para evitar contaminaciones cruzadas y resultados erróneamente aumentados.
- El NovaLISA™ ELISA está pensado exclusivamente para su uso por personal especializado que domine perfectamente las técnicas de trabajo.

**ADVERTENCIA:** Bronidox L, en la concentración utilizada, casi no muestra riesgos tóxicos en la piel y en las mucosas.

**ADVERTENCIA:** El ácido sulfúrico irrita los ojos y la piel! En caso de contacto con los ojos lavar abundantemente con agua y consultar a un médico.

### **12.1. Indicaciones para la eliminación de residuos**

Por regla general, los productos químicos y las preparaciones son residuos peligrosos. Su eliminación esta sometida a las leyes y los decretos nacionales sobre la eliminación de residuos. Las autoridades informan sobre la eliminación de residuos peligroso.

## **13. INFORMACIONES PARA PEDIDOS**

Nº del producto: CANG0060      Candida albicans IgG-ELISA (96 determinaciones)







## **BIBLIOGRAPHY / LITERATUR / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFÍA**

---

- IRURETAGOYENA, R.J., REGÚEZ, P., QUINDÓS, G. AND PONTÓN, J. (2000) ANTIBODIES TO CANDIDA ALBICANS GERM TUBES IN TWO INTENSIVE CARE PATIENTS WITH INVASIVE CANDIDIASIS. REV. IBEROAM. MICOL. 17, 93-96
- ELLEPOLA, A.N.B. AND MORRISON, C.J. (2005) LABORATORY DIAGNOSIS OF INVASIVE CANDIDIASIS. J. MICROBIOL. 43 (S), 65-84
- QUINDÓS, G., MORAGUES, M.D. AND PONTÓN, J. (2004) IS THERE A ROLE FOR ANTIBODY TESTING IN THE DIAGNOSIS OF INVASIVE CANDIDIASIS? REV. IBEROAM. MICOL. 21, 10-14
- ARAJ, G.F., HOPFER, R.L., CHESTNUT, S., FAINSTEIN, V. AND BODEY, G.P. (1982) DIAGNOSTIC VALUE OF THE ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY FOR DETECTION OF CANDIDA ALBICANS CYTOPLASMIC ANTIGEN IN SERA OF CANCER PATIENTS. J. CLIN. MICROBIOL. 16, 46-52
- AKPAN, A. AND MORGAN, R. (2002) ORAL CANDIDIASIS. POSTGRAD. MED. J. 78, 455-459
- MEUNIER-CARPENTIER, F., KIEHN, T.E. AND ARMSTRONG, D. (19981) FUNGEMIA IN THE IMMUNOCOMPROMISED HOST. AM. J. MED. 71, 363-370
- WITKIN, S.S., YU, I.R. AND LEDGER, W.J. (1983) INHIBITION OF CANDIDA ALBICANS- INDUCED LYMPHOCYTE PROLIFERATION BY LYMPHOCYTES AND SERA FROM WOMEN WITH RECURRENT VAGINITIS. AM. J. OBSTET. GYNECOL. 147, 809-811

Symbols Key/ Symbolschlüssel/ Explication des symboles / Legenda / Símbolos	
	Manufactured by / Hergestellt von/ Fabriqué par/ Prodotto da/ Fabricado por
	In Vitro Diagnostic Medical Device/ In Vitro Diagnosticum/ Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> / Diganostico <i>in vitro</i> / Producto para diagnóstico In vitro
	Lot Number/ Chargenbezeichnung/ Numéro de lot/ Lotto/ Número de lote
	Expiration Date/ Verfallsdatum/ Date de péremption/ Scadenza/ Fecha de caducidad
	Storage Temperature/ Lagertemperatur/ Température de conservation/ Temperatura di conservazione / Temperatura de almacenamiento
	CE Mark/ CE-Zeichen/ Marquage CE / Marchio CE/ Marca CE
	Catalogue Number/ Katalog Nummer/ Référence du catalogue/ Numero di codice/ Número de Catálogo
	Consult Instructions for Use/ Gebrauchsanweisung beachten/ Consulter la notice d'utilisation/ Consultare le istruzioni/ Consulte las Instrucciones de Uso
	Microplate/ Mikrotiterplatte/ Microplaquette/ Micropiastra/ Microplaca
	Conjugate/ Konjugat/ Conjugué/ Conjugato/ Conjugado
	Control serum, negative/ Kontrollserum, negative/ Sérum de contrôle négatif/ siero di controllo, negativo /Suero control negativo
	Control serum, positive/ Kontrollserum, positiv/ Sérum de contrôle positif/ siero di controllo, positivo/ Suero de control positivo
	Cut off control serum/ Cut off Kontrollserum/ Sérum de contrôle du cut-off/ siero di controllo, cut-off/ Suero control Cut-off
	Sample diluent buffer IgG/ IgG-Probenverdünnungspuffer/ Tampon diluant pour échantillon IgG/ soluzione tampone per i campioni IgG/ solución tampón para muestras IgG
	Stop solution/ Stopplösung/ Solution d'arrêt/Soluzione bloccante
	TMB Substrate solution/ TMB-Substratlösung/ Substrat TMB/ soluzione substrato TMB/ solución substrato TMB
	Washing solution 20x concentrated/ Waschlösung 20x konzentriert/ Solution de lavage concentré 20 x/ soluzione di lavaggio concentrazione x20/ solución de lavado concentrado x20
	Contains sufficient for "n" tests/ Ausreichend für "n" Tests/ Contenu suffisant pour "n" tests/ Contenuto sufficiente per "n" saggi/ Contenido suficiente para "n" tests

# SCHEME OF THE ASSAY

Candida albicans IgG-ELISA

## Test preparation

Prepare reagents and samples as described.  
Establish the distribution and identification plan for all specimens and controls on the result sheet supplied in the kit.  
Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

## Assay procedure

	Substrate blank (e.g. A1)	Negative control	Positive control	Cut-off control	Sample (diluted 1+100)
Negative control	-	100µl	-	-	-
Positive control	-	-	100µl	-	-
Cut-off control	-	-	-	100µl	-
Sample (diluted 1+100)	-	-	-	-	100µl
Cover wells with foil supplied in the kit					
<b>Incubate for 1 h at 37°C</b>					
Wash each well three times with 300µl of washing solution					
Conjugate	-	100µl	100µl	100µl	100µl
Cover wells with foil supplied in the kit					
<b>Incubate for 30 min at room temperature</b>					
Wash each well three times with 300µl of washing solution					
TMB Substrate	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl
<b>Incubate for exactly 15 min at room temperature in the dark</b>					
Stop Solution	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl
Photometric measurement at 450 nm (reference wavelength: 620 nm)					

**NovaTec Immundiagnostica GmbH**

**Technologie & Waldpark**

Waldstr. 23 A6  
D-63128 Dietzenbach, Germany

Tel.: +49 (0) 6074-48760  
Fax: +49 (0) 6074-487629  
Email : info@NovaTec-ID.com  
Internet: www.NovaTec-ID.com

CANG0060engl,dt,fr,it,es07042009-AD