

**VIROTECH Candida albicans IgG/IgM ELISA
(C. albicans IgG/IgM ELISA)**

Bestell-Nr.: EC111.00

C. albicans IgA-Set

Bestell-Nr.: EC111.08

Farbcodierung: dunkelbraun

NUR ZUR IN VITRO DIAGNOSTIK

**Virotech Diagnostics GmbH
Waldstrasse 23 A2
63128 Dietzenbach, Germany**

**Tel.: +49(0)6074-23698-0
Fax.: +49(0)6074-23698-900
www.goldstandarddiagnostics.com**



Inhalt

1. Verwendungszweck.....	3
2. Diagnostische Bedeutung.....	3
3. Testprinzip	4
4. Packungsinhalt.....	4
4.1 IgG/IgM Testkit.....	4
4.2 IgA Set.....	4
5. Lagerung und Haltbarkeit des Testkits und der gebrauchsfertigen Reagenzien	4
6. Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise	5
7. Zusätzlich benötigtes Material (wird nicht mitgeliefert).....	5
8. Testdurchführung	5
8.1 Untersuchungsmaterial	5
8.2 Vorbereitung der Reagenzien	5
8.3 VIROTECH ELISA Testdurchführung.....	6
8.4 Einsatz von ELISA-Prozessoren	6
9. Testauswertung.....	7
9.1 Testfunktionskontrolle	7
9.2 Berechnung der VIROTECH Einheiten (VE).....	7
9.3 Auswertungsschema IgG, IgM und IgA	7
9.4 Interpretationsschema.....	8
9.5 Grenzen des Tests.....	8
10. Leistungsdaten.....	8
10.1 Diagnostische Sensitivität	8
10.2 Spezifität	9
10.3 Kreuzreaktivität	9
10.4 Durchseuchung (erwartete Werte)	9
10.5 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit)	9
10.6 Inter-Assay-Variationskoeffizient (Reproduzierbarkeit)	9
11. Literatur.....	9
12. Testablaufschemata.....	10

1. Verwendungszweck

Der Candida albicans ELISA IgM/IgG/IgA dient dem semiquantitativen und qualitativen Nachweis von IgG-, IgM- und IgA-Antikörpern gegen Candida albicans in Humanserum. Einzusetzen ist der Test bei einem klinischen Verdacht auf das Vorliegen einer invasiven bzw. generalisierten Candida-Mykose. Aufgrund der hohen Durchseuchungsrate der Bevölkerung ist der Candida albicans ELISA IgG speziell für das Erkennen von frischen Infektionen eingestellt worden.

2. Diagnostische Bedeutung

Die Gattung Candida gehört zu den Sproßpilzen und ist bei etwa 40% der gesunden Bevölkerung als harmloser Kommensale auf Schleimhäuten (Mund und Darmflora) zu finden. Die Übertragung erfolgt dabei meist über Schmierkontaminationen von Mensch zu Mensch. Auslöser für eine Candida Infektion ist häufig eine instabile Immunitätslage, insbesondere ein Defekt der zellulären Immunantwort.

Eine Oberflächencandidose entsteht durch zunehmende Vermehrung und Anheftung von Candida Spezies an Epithelzellen. Gelingt es dem Mikroorganismus die Schleimhautbarrieren zu überwinden und in Lymphsystem und Blutbahn überzutreten, dann kommt es zur Besiedlung der inneren Organe und zur Ausbildung einer systemischen, invasiven Candidose. (1)

Candida Infektionen		
	Oberflächlich	Invasiv
Lokalisierung	Haut, Schleimhaut	Generalisiert
Immunstatus	+	+, +/-, -
Risikofaktoren	Schwangerschaft, Diabetes, AIDS, Störungen der Hauteigen-schaften	Chemotherapie, iatrogene Immunsuppression, zentrale Venenkatheter, Radiotherapie, Verbrennungen, chirurgische Eingriffe
Verlauf	meist harmlos	oft lebensbedrohlich
Therapiemöglichkeit	gut	abhängig vom Stadium

Der Krankheitsverlauf einer invasiven Candidose ist sehr uncharakteristisch, was die frühzeitige Erkennung einer Infektion aufgrund der Symptomatik erheblich erschwert. Der Nachweis von Candida-Antigen und / oder spezifischen Candida-Antikörpern in Humanserum gewinnt somit an Bedeutung. Dabei muss beachtet werden, dass auch eine vorübergehende Candida-besiedlung eine Antikörperantwort induzieren kann. Im Gegensatz dazu kann es bei systemischen Candidainfektionen bei immunsupprimierten Patienten oft nur zu geringgradigen Titerbewegungen kommen. (1,2)

Generell muss angemerkt werden, dass den verschiedenen Nachweisverfahren unterschiedliche Testprinzipien zugrunde liegen, was einen direkten Vergleich der Nachweise schwierig macht. Die Spezifität der detektierten Antikörper hängt dabei vor allem von der verwendeten Antigenpräparation ab (z.B. HAT, ELISA, IFT). Beim HAT werden überwiegend Antikörper vom IgM Typ aufgrund ihres stärkeren Agglutinationsverhaltens erfasst. Da die Titerverläufe der Immunglobulinklassen nicht einzeln verfolgt werden können, kann es so zu einer Vortäuschung des Stillstands der Titerbewegung bei abfallenden IgM Titern und gleichzeitig steigenden IgG Titern kommen. So ist es bei einer Kombination von HAT und ELISA möglich, dass der ELISA Titerbewegungen anzeigt, während der HAT-Titer stagniert. (3,4)

Da unbehandelte invasive Infektionen tödlich verlaufen können, ist es empfehlenswert, Risikopatienten im Abstand von einer Woche auf Candida-Antikörper zu überprüfen. Bei akutem Verdacht auf eine invasive Candidose sollten zusätzliche Serumproben getestet werden. Zur optimalen Überwachung und Therapiesteuerung sollten jedoch auch weitere Nachweismethoden kombiniert eingesetzt werden, da derzeit keine Nachweismethode alleine die Möglichkeit einer umfassenden Candida-Diagnostik bietet. Häufig zeigen auch immunsupprimierte Patienten und Kinder geringere Antikörperkonzentrationen. Titerbewegungen unterhalb der Grenzwerte können in diesen Fällen bereits als Hinweis auf eine Candidose gewertet werden. Die Durchführung zusätzlicher Testverfahren ist auch hier zu empfehlen. Aufgrund der hohen Durchseuchungsrate wurde der VIROTECH ELISA im IgG anhand von spezifischen Seren mit gesicherter Candidainfektion so eingestellt, dass der Test im IgG vorwiegend frische Infektionen detektiert. (1,3)

3. Testprinzip

Der im Humanserum gesuchte Antikörper bildet mit dem auf der Mikrotiterplatte fixierten Antigen einen Immunkomplex. Nicht gebundene Immunglobuline werden durch Waschprozesse entfernt. Mit diesem Komplex verbindet sich das Enzym-Konjugat. Nicht gebundene Immunglobuline werden wiederum durch Waschprozesse entfernt. Nach Zugabe der Substratlösung (TMB) entsteht durch Enzymaktivität (Peroxidase) ein blauer Farbstoff, der nach Zugabe der Stopplösung nach Gelb umschlägt.

4. Packungsinhalt

4.1 IgG/IgM Testkit

1. **1 Mikrotiterplatte**, bestehend aus 96 mit Antigen beschichteten, abbrechbaren Einzelkavitäten, lyophilisiert
2. **PBS-Verdünnungspuffer (blau, gebrauchsfertig) 2x50ml**, pH 7,2, mit Konservierungsmittel und Tween 20
3. **PBS-Waschlösung, (20x konzentriert) 50ml**, pH 7,2, mit Konservierungsmittel und Tween 20
4. **IgG negative Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
5. **IgG cut-off Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
6. **IgG positive Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
7. **IgM negative Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
8. **IgM cut-off Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
9. **IgM positive Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
10. **IgG-Konjugat (anti-human), 11ml**, (Schaf oder Ziege)-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel in Tris-Puffer, gebrauchsfertig
11. **IgM-Konjugat (anti-human), 11ml**, (Schaf oder Ziege)-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat mit FCS und Konservierungsmittel in Tris-Puffer, gebrauchsfertig
12. **Tetramethylbenzidin Substratlösung (3,3',5,5'-TMB), 11ml**, gebrauchsfertig
13. **Citrat-Stopplösung, 6ml**, enthält ein Säuregemisch

4.2 IgA Set

1. **IgA negative Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
2. **IgA cut-off Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
3. **IgA positive Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
4. **IgA-Konjugat (anti-human), 11ml**, (Schaf oder Ziege)-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat mit FCS und Konservierungsmittel in Tris-Puffer, gebrauchsfertig

5. Lagerung und Haltbarkeit des Testkits und der gebrauchsfertigen Reagenzien

Testkit bei 2-8°C aufbewahren. Die Haltbarkeit der einzelnen Komponenten ist auf dem jeweiligen Etikett vermerkt; Kit-Haltbarkeit siehe Qualitätskontrollzertifikat.

1. Nach Entnahme der benötigten Einzelkavitäten die restlichen Einzelkavitäten/Streifen in verschlossenem Beutel mit Trockenmittel bei 2-8°C lagern. Reagenzien sofort nach Gebrauch wieder bei 2-8°C lagern.
2. Das gebrauchsfertige Konjugat und die TMB Substratlösung sind lichtempfindlich und müssen im Dunkeln aufbewahrt werden. Kommt es durch Lichteinfall zu einer Farbentwicklung der Substratlösung, so ist diese zu verwerfen.
3. Nur die für den Testansatz benötigte Menge vom gebrauchsfertigen Konjugat bzw. TMB entnehmen. Zuviel entnommenes Konjugat bzw. TMB darf nicht zurückgeführt werden sondern ist zu verwerfen.

Material	Zustand	Lagerung	Haltbarkeit
Untersuchungsproben	verdünnt	+2 bis +8°C	max. 6h
	unverdünnt	+2 bis +8°C	1Woche
Kontrollen	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3Monate
MTP	nach Öffnen	+2 bis +8° (Lagerung im mitgelieferten Beutel mit Trockenmittelbeutel)	3Monate
RF-SorboTech	unverdünnt, nach Öffnen	+2 bis +8°C	3Monate
	verdünnt	+2 bis +8°C	1Woche
Konjugat	nach Öffnen	+2 bis +8°C (lichtgeschützt)	3Monate
TMB	nach Öffnen	+2 bis +8°C (lichtgeschützt)	3Monate
Stopplösung	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3Monate

Waschlösung	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3Monate
	endverdünnt (gebrauchsfertig)	+2 bis +25°C	4Wochen

6. Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

1. Als Kontrollseren werden nur Seren verwendet, die getestet und als HIV1-AK, HIV2-AK, HCV-AK und Hepatitis-B-surface-Antigen negativ befundet wurden. Trotzdem sollten alle Proben, verdünnte Proben, Kontrollen, Konjugate und die Mikrotiterstreifen als potentiell infektiöses Material betrachtet und entsprechend sorgfältig gehandhabt werden. Es gelten die jeweiligen Richtlinien für Laborarbeiten.
2. Die Komponenten, die Konservierungsmittel enthalten, Citrat-Stopp-Lösung und TMB wirken reizend auf die Haut, Augen und Schleimhäute. Bei Berührungen die betroffenen Körperstellen sofort unter fließendem Wasser abwaschen und eventuell den Arzt aufsuchen.
3. Die Entsorgung der verwendeten Materialien erfolgt nach länderspezifischen Richtlinien

7. Zusätzlich benötigtes Material (wird nicht mitgeliefert)

1. Aqua dest./demin.
2. Mehrkanalpipette 50µl, 100µl
3. Mikropipetten: 10µl, 100µl, 1000µl
4. Reagenzgläser
5. Zellstofftücher
6. Abdeckung für ELISA-Platten
7. Abfallbehälter für infektiöses Material
8. ELISA Handwascher bzw. automatischer Wascher für Mikrotiterplatten
9. Spektralphotometer für Mikrotiterplatten mit 450/620nm Filter (Referenzwellenlänge 620-690nm)
10. Brutschrank

8. Testdurchführung

Die exakte Einhaltung der VIROTECH Diagnostics Arbeitsvorschrift ist Voraussetzung für das Erzielen korrekter Ergebnisse.

8.1 Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial kann Serum und Plasma (hierbei ist die Art der Antikoagulanzen nicht von Relevanz) eingesetzt werden, auch wenn in dieser Gebrauchsanweisung nur Serum erwähnt ist.

Patienten-Verdünnungen immer frisch ansetzen.

Für eine längere Aufbewahrung müssen die Seren eingefroren werden. Mehrmaliges Auftauen sollte vermieden werden.

1. Nur frische, nicht inaktivierte Seren benutzen.
2. Hyperlipämische, hämolytische, mikrobiell kontaminierte Proben und trübe Seren nicht verwenden (falsch positive/negative Ergebnisse).

8.2 Vorbereitung der Reagenzien

Die VIROTECH Diagnostics System Diagnostik bietet ein hohes Maß an Flexibilität durch die Möglichkeit, Verdünnungs- und Waschpuffer, TMB, Citrat-Stoppplösung sowie Konjugat parameter- und chargenübergreifend einzusetzen. Die gebrauchsfertigen Kontrollen (positive Kontrolle, cut-off Kontrolle, negative Kontrolle) sind parameterspezifisch und ausschließlich mit der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen Plattencharge zu verwenden.

1. Brutschrank auf 37°C einstellen und sich vor Inkubationsbeginn vom Erreichen der Temperatur überzeugen.
2. Alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen; erst dann die Verpackung mit den Teststreifen öffnen.
3. Alle Flüssigkomponenten vor Gebrauch gut schütteln.
4. Waschlösungs-Konzentrat auf 1Liter mit Aqua dest./demin. auffüllen (bei eventueller Kristallbildung des Konzentrates dieses bitte vor dem Verdünnen auf Raumtemperatur bringen und vor Gebrauch gut schütteln).
5. Hohe IgG-Titer oder Rheumafaktoren können den spezifischen Nachweis von IgM-Antikörpern stören und zu falsch positiven bzw. falsch negativen Ergebnissen führen. **Für eine korrekte IgM-Bestimmung ist es daher erforderlich, die Seren mit RF-SorboTech (VIROTECH-Absorptionsmittel) vorzubehandeln.** Bei IgM-Kontrollen entfällt die Voradsorption.

8.3 VIROTECH ELISA Testdurchführung

- Pro Testansatz 100µl des gebrauchsfertigen Verdünnungspuffers (Leerwert), der negativen-, cut-off und der positiven IgG-, IgM- und IgA- Kontrolle, sowie der verdünnten Patientenseren pipettieren. Wir empfehlen jeweils einen Doppelansatz (Leerwert, Kontrollen und Patientenseren); bei der cut-off Kontrolle ist ein Doppelansatz zwingend notwendig.

Arbeitsverdünnung der Patientenseren:

Nachweis von:	Patientenserum	RF-SorboTech	PBS-Verdünnungspuffer
IgG und IgA	5µl	-	500µl Vorverdünnung (1:101)
	30µl der 1:101 Vorverdünnung	-	270µl Endverdünnung (1:1010)
IgM	5µl	50µl	450µl Vorverdünnung (1:101)
	Nach der Inkubation: 30µl der 1:101 Vorverdünnung	-	Bei RT für 15 Minuten inkubieren 270µl Endverdünnung (1:1010)

(Für die IgM-Diagnostik bitte die Vorbehandlung mit RF-SorboTech beachten!)

- Nach Pipettierung erfolgt die Inkubation für 30 Min. bei 37 °C (mit Abdeckung).
- Beenden der Inkubationsperiode durch 4-maliges Waschen mit je 350-400µl Waschlösung pro Vertiefung. Waschlösung nicht in den Vertiefungen stehen lassen, sondern letzte Flüssigkeitsreste durch Ausklopfen auf einer Zellstoffunterlage entfernen.
- 100µl des gebrauchsfertigen Konjugats in alle Vertiefungen pipettieren.
- Inkubation der Konjugate: 30 Min. bei 37°C (mit Abdeckung).
- Beenden der Konjugatinkubation durch 4-maliges Waschen (siehe Pkt. 3).
- 100µl der gebrauchsfertigen TMB-Substratlösung in jede Vertiefung pipettieren.
- Inkubation der Substratlösung: 30 Min. bei 37°C (mit Abdeckung, dunkel stellen).
- Abstoppen der Substratreaktion: in alle Vertiefungen je 50µl Citrat-Stopplösung pipettieren. Die Platte vorsichtig und sorgfältig schütteln bis sich die Flüssigkeiten vollständig durchmischt haben und eine einheitliche gelbe Farbe sichtbar wird.
- Extinktionen bei 450/620nm (Referenzwellenlänge 620-690nm) messen. Photometer so einstellen, dass der gemessene Leerwert von allen anderen Extinktionen abgezogen wird. Die photometrische Messung sollte innerhalb einer Stunde nach Zugabe der Stopplösung durchgeführt werden.

Testablaufschemata siehe letzte Seite

8.4 Einsatz von ELISA-Prozessoren

Alle VIROTECH Diagnostics ELISAs können mit Hilfe von ELISA-Prozessoren abgearbeitet werden. Der Anwender ist verpflichtet eine regelmäßige Gerätevalidierung durchzuführen.

VIROTECH Diagnostics empfiehlt die folgende Vorgehensweise:

- Bei Gerätestellung bzw. größeren Reparaturen Ihres ELISA Prozessors empfiehlt VIROTECH Diagnostics, die Validierung des Gerätes gemäß den Vorgaben des Geräteherstellers vorzunehmen.
- Es wird empfohlen, anschließend den ELISA Prozessor mit dem Validierungskit (EC250.00) zu überprüfen. Diese regelmäßige Überprüfung mit dem Validierungskit sollte mindestens einmal pro Quartal durchgeführt werden.
- Bei jedem Testlauf müssen die Freigabekriterien des Qualitätskontrollzertifikates zum Produkt erfüllt werden. Diese Vorgehensweise gewährleistet die einwandfreie Funktion Ihres ELISA Prozessors und dient darüber hinaus der Qualitätssicherung des Labors.

9. Testauswertung

Die gebrauchsfertigen Kontrollen dienen einer semiquantitativen Bestimmung spezifischer IgG-, IgM- und IgA-Antikörper, deren Konzentration in VIROTECH Einheiten (=VE) angegeben wird. Durch die Testdurchführung bedingte Schwankungen werden über die Berechnungsmethode ausgeglichen und es wird damit eine hohe Reproduzierbarkeit erreicht. Für die Berechnung der VE werden die Mittelwerte der OD-Werte eingesetzt.

9.1 Testfunktionskontrolle

a) OD-Werte

Der OD-Wert des Leerwertes sollte <0,15 sein.

Die OD-Werte der negativen Kontrollen sollten unterhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen OD-Werte, die OD-Werte der positiven Kontrollen sowie der cut-off Kontrollen sollten oberhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen OD-Werte liegen.

b) VIROTECH Einheiten (VE)

Die VIROTECH Einheiten (VE) der cut-off Kontrollen sind mit 10 VE definiert. Die berechneten VE der positiven Kontrollen sollten innerhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen Bereiche liegen.

Werden die Anforderungen (OD-Werte, VE) nicht erfüllt, so ist der Test zu wiederholen.

9.2 Berechnung der VIROTECH Einheiten (VE)

Die Extinktion des Leerwertes (450/620nm) muß von allen Extinktionen abgezogen werden.

$$\begin{aligned} \text{VE (positive Kontrolle)} &= \frac{\text{OD (positive Kontrolle)}}{\text{OD (cut-off Kontrolle)}} \times 10 \\ \text{VE (Patientenserum)} &= \frac{\text{OD (Patientenserum)}}{\text{OD (cut-off Kontrolle)}} \times 10 \end{aligned}$$

9.3 Auswertungsschema IgG, IgM und IgA

Ergebnis (VE)	Beurteilung
< 9,0	Negativ
9,0 - 11,0	Graubereich
> 11,0	Positiv

- Liegen die gemessenen VE der Probe oberhalb des grenzwertigen Bereiches, so werden die Proben als positiv betrachtet.
- Befinden sich die gemessenen VE innerhalb des angegebenen grenzwertigen Bereiches, liegt keine signifikant hohe Antikörperkonzentration vor; die Proben werden als grenzwertig betrachtet. Für den sicheren Nachweis einer Infektion ist es erforderlich, den Antikörpergehalt zweier Serumproben zu bestimmen. Eine Serumprobe sollte direkt nach Beginn der Infektion, eine zweite Probe 5-10 Tage später (rekonvaleszentes Serum) getestet werden. Die Antikörperkonzentration beider Proben muß parallel, d.h. in einem Testansatz bestimmt werden. Eine korrekte Diagnose aufgrund der Bewertung einer einzelnen Serumprobe ist nicht möglich.
- Liegen die gemessenen Werte unterhalb des definierten grenzwertigen Bereiches, sind keine messbaren antigenspezifischen Antikörper in der Probe vorhanden. Die Proben werden als negativ betrachtet.
- Ein positives IgG Ergebnis spricht entweder für eine vor längerer Zeit durchgemachte Infektion oder für eine frische Infektion.
Ein positives IgM Ergebnis spricht für eine akute Infektion und ein positives IgA Ergebnis spricht für eine relativ akute Reinfektion, denn IgA kann Monate persistieren.
Ein negatives Ergebnis spricht dafür, dass der Patient nicht infiziert war bzw. ist.

9.4 Interpretationsschema

IgG	IgA	IgM	Interpretation
-	-	-	Kein Hinweis auf eine invasive Candidose
+ / gw	-	-	Hinweis auf zurückliegende Infektion
-	+	-	Hinweis auf akute Infektion
-	-	+	
+	+	-	
+	-	+	
+	+	+	
-	+	+	

9.5 Grenzen des Tests

1. Die Interpretation serologischer Ergebnisse sollte immer das klinische Bild, epidemiologische Daten und eventuell weitere zur Verfügung stehende Laborbefunde mit einbeziehen.
2. Kreuzreaktivitäten sind insbesondere bei Seren zu erwarten, die positiv sind für andere Candida Spezies, Mycoplasma bzw. Penicillium marneffeii.
3. Aufgrund der hohen Durchseuchung mit Candida sind häufig hohe Antikörperkonzentrationen, insbesondere für IgG, zu finden. Isoliert hohe IgG Titer sprechen daher noch nicht für eine invasive Candidose.

Um eine, unter Umständen lebensbedrohliche Candidose frühzeitig erkennen und behandeln zu können, ist bei Risikopatienten das Testen von Serumproben im Abstand von einer Woche empfehlenswert. Bei akutem Verdacht auf eine invasive Candidose sollten zusätzliche Serumproben getestet werden.

Es ist zu beachten, dass signifikante Titerverläufe unterhalb der Grenzwerte, insbesondere bei immunsupprimierten Patienten und Kindern, ein Hinweis auf eine invasive Infektion sein können. Die Interpretation der ELISA Ergebnisse sollte aus diesem Grund immer im Zusammenhang mit zusätzlichen Testverfahren (HAT, Kultur), weiteren labordiagnostischen Parametern und dem klinischen Bild erfolgen. Eine korrekte Diagnose aufgrund der Bewertung einer einzelnen Serumprobe ist nicht möglich.

10. Leistungsdaten

10.1 Diagnostische Sensitivität

Zur Bestimmung der diagnostischen Sensitivität wurden 34 Seren getestet. Bei diesem Patientenmaterial handelt es sich um Routineseren der Universitätsklinik Heidelberg mit positivem Blutkultur-Befund und ein Serum mit histologischer Bewertung. Der Abgleich erfolgte gegen das Blutkultur-Ergebnis bzw. die histologische Bewertung.

Das Minimalkriterium für einen Hinweis auf eine invasive Candidose im VIROTECH ELISA ist ein positives Ergebnis des entsprechenden Serums im IgA- oder IgM-Candida ELISA.

Serenkollektiv (n=34)	IgM/IgA
Negativ	9
Grenzwertig	2
Positiv	23

Für die diagnostische Sensitivität ergibt sich ein Wert von 71,9%.

Grenzwertige Seren wurden bei der Berechnung nicht berücksichtigt

10.2 Spezifität

Zur Bestimmung der Spezifität wurden im IgM und IgA 80 Blutspenderseren getestet.

Serenkollektiv (n=80)	IgM	IgA
Negativ	75	80
Grenzwertig	2	0
Positiv	3	0

Für die Spezifität ergibt sich für IgA ein Wert von >99,8% und für IgM ein Wert von 96,6%.

Grenzwertige Seren wurden nicht berücksichtigt.

10.3 Kreuzreaktivität

Zur Bestimmung von Kreuzreaktivitäten wurden 82 Routineseren vom Uni-Klinikum Heidelberg untersucht, die positiv für Antikörper gegen 12 verschiedene Erreger (u.a. Aspergillus, Penicillium marneffei) getestet waren.

Die Berechnung der Spezifität ergibt einen Wert von 87,3%.

Kreuzreaktivitäten sind insbesondere bei Seren zu erwarten, die positiv sind für andere Candida Spezies, Mycoplasma bzw. Penicillium marneffei.

10.4 Durchseuchung (erwartete Werte)

Die folgende Tabelle zeigt die Ergebnisse von Blutspenderseren für IgG (n=80), IgA (n=80) und IgM (n=80)

	IgG	IgA	IgM
Negativ	65	80	75
Grenzwertig	8	0	2
Positiv	7	0	3

10.5 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit)

In einem Assay wurden Streifen verschiedener Platten einer Charge mit einem Serum getestet. Der so ermittelte Variationskoeffizient beträgt < 9% (bei einem mittleren OD - Wert von 0,67).

10.6 Inter-Assay-Variationskoeffizient (Reproduzierbarkeit)

In 10 unabhängigen Testansätzen wurden in verschiedenen Labors und von unterschiedlichen Testpersonen 3 Seren getestet.

Candida albicans ELISA IgG

Serum	Mittelwert VE	Variationskoeffizient
Negativ	4,97	13,87%
grenzwertig	9,47	7,83%
Positiv	18,52	7,08%

11. Literatur

1. T. Steinmetz; Candidamykosen in der Intensivmedizin; Mykosen Nr. 1, 1996, Seite 1-20
2. J. Krämer; Entwicklung neuer serologischer Testverfahren zur Diagnostik der invasiven Candidose auf der Basis von Markerantigenen; 1991; Doktorarbeit
3. D. Milatovic et al.; Candida Infektionen – neue Aspekte der Pathogenese, Therapie und Prophylaxe; 2. Auflage 1996
4. E. Werle et al.; Nachweis von Anti-Candida-Antikörpern der Klassen IgM, IgG und IgA mittels Enzymimmunoassays in sequentiellen Serumproben hospitalisierter Patienten, Mycoses, 37 (Suppl 1), 71-78 (1994)

Vorbereitung der Patientenproben und Waschlösung

▼ **Waschlösung:** Konzentrat auf 1 Liter mit aqua dest./demin. Auffüllen

▼ **IgG-/IgA-Proben – Verdünnung**
1:1010

z.B.:

5 µl Serum/Plasma + 500 µl Verdünnungspuffer (1:101)
30 µl der 1:101 Vorverdünnung + 270 µl Verdünnungspuffer
(Serumverdünnungspuffer ist gebrauchsfertig)

▼ **IgM-Proben - Verdünnung**
1:1010

Rheumafaktorabsorption mit RF-SorboTech

z.B.:

5 µl Serum/Plasma + 450 µl Verdünnungspuffer +
1 Tropfen RF-SorboTech (ca. 50µl)
Bei RT 15 min inkubieren
30µl der 1:101 Vorverdünnung + 270 µl Verdünnungspuffer

Testdurchführung

