

ELITex Bicolor albi-dubli

Prueba de látex en portaobjetos para la detección de *Candidiasis* del grupo *C. albicans / C. dubliniensis*

60 pruebas
(Ref. 44500)

360 pruebas
(Ref. 44501)

8000030-ES-2014-06



1 - USO PREVISTO

ELITex Bicolor albi-dubli es una prueba de aglutinación en portaobjetos para la **detección rápida de *Cándida* del grupo *C. albicans/C. dubliniensis*, directamente a partir de colonias aisladas.** Cada kit, con n.º de ref. 44500, permite realizar 60 pruebas. Cada kit, con n.º de ref. 44501, permite realizar 360 pruebas.

2 - INTRODUCCIÓN

Las levaduras del género *Cándida* pueden ser responsables de la candidiasis cutánea, la candidiasis de las mucosas, la candidemia o la candidiasis invasiva.

La *Cándida* suele ser un hongo de levadura comensal de las mucosas digestivas y urogenitales. Se vuelve patógeno solo cuando se dan las condiciones favorables en el huésped. Los factores que favorecen la infección por candidiasis incluyen factores fisiológicos intrínsecos o patologías (edad avanzada, diabetes gestacional, deficiencias inmunológicas y enfermedades malignas). Los factores extrínsecos son principalmente factores iatrogénicos. La prevalencia de la candidiasis ha aumentado considerablemente en los últimos veinte años debido a la aparición de enfermedades como el SIDA, el uso generalizado de antibióticos y anticonceptivos orales, el desarrollo de inmunosupresores terapéuticos, la nutrición parenteral y el aumento de los métodos de exploración agresivos y los procedimientos quirúrgicos. La *Cándida*, por ejemplo, es responsable de aproximadamente el 10 % de las infecciones nosocomiales, un porcentaje que, según ciertos estudios, puede llegar hasta el 20 %. Además, el pronóstico para la candidiasis es malo, con una mortalidad de los pacientes afectados que oscila entre el 38 y el 50 %.

La *C. albicans* es la especie que se aísla con más frecuencia. Representa entre el 60 y el 80 % de los aislamientos clínicos. La identificación de *C. albicans* puede hacerse simultáneamente con el aislamiento en medios cromogénicos o por características fenotípicas como la capacidad de formar tubos germinales. También se pueden utilizar pruebas bioquímicas, como el auxanograma de carbono (que estudia la asimilación de monosacáridos como fuente de carbono y energía) y el zimograma (que estudia la utilización de monosacáridos en la anaerobiosis). Su desventaja es el largo tiempo de espera de 24 a 48 horas antes de que se puedan leer las pruebas.

La *C. albicans* es la especie de *Cándida* más patógena. Por lo tanto, la detección rápida es crucial para la elección de las medidas terapéuticas.

ELITex Bicolor albi-dubli es una prueba rápida que permite la detección de *Cándida* del grupo *C. albicans / C. dubliniensis*. Esta prueba utiliza partículas de látex sensibilizadas con un anticuerpo monoclonal específico para un antígeno común a estas dos especies. La diferenciación entre estas dos especies es posible con la prueba ELITex Bicolor *dubliniensis*.

3 - PRINCIPIO DE LA PRUEBA

ELITex Bicolor albi-dubli se realiza con 2 reactivos:

- Reactivo de **TEST LATEX** (marrón) compuesto por partículas de látex de color rojo en suspensión con un contratante verde. Estas partículas están sensibilizadas con un anticuerpo monoclonal específico para un antígeno de *C. albicans / C. dubliniensis* presente principalmente en la pared celular de la levadura.

- Reactivo **R-DIS** que contiene enzimas capaces de disociar las células y exponer el antígeno intraparietal reconocido por el anticuerpo monoclonal.

Cuando se añade el reactivo de **TEST LATEX** a las colonias de *C. albicans* o *C. dubliniensis* previamente suspendidas con el reactivo **R-DIS**, la agitación de la suspensión provoca la coagulación entre las blastosporas portadoras del antígeno reconocido por el anticuerpo monoclonal y las partículas de látex sensibilizadas.

Una reacción positiva da lugar a una aglutinación roja sobre un fondo verde más o menos intenso. Para las colonias de levadura que no sean *C. albicans* y *C. dubliniensis*, no se observa aglutinación y la suspensión permanece homogénea y de color marrón uniforme.

El manejo es sencillo y rápido, los resultados están disponibles en 5 minutos.

4 - REACTIVOS Y MATERIALES

Descripción – Kit de 60 pruebas (Ref. 44500)	Cantidad
TEST LATEX: Tubo con 1 mL de látex sensibilizado	1
R-DIS: tubo con reactivo de disociación liofilizado (reconstitución con 0,45 mL de agua dest.)	3
TEST CARD: portaobjetos de un solo uso	8
STICK: palillos para remover de un solo uso	60
DROPPER: gotero especial	1

Descripción – Kit de 360 pruebas (Ref. 44501)	Cantidad
TEST LATEX: tubo con 3 mL de látex sensibilizado	2
R-DIS: tubo con reactivo de disociación liofilizado (reconstitución con 2,5 mL de agua dest.)	3
TEST CARD: portaobjetos de un solo uso	50
STICK: palillos para remover de un solo uso	360
DROPPER: gotero especial	1

5 - ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Los reactivos están destinados a un uso exclusivo de diagnóstico *in vitro* y deben ser manipulados únicamente por personal autorizado.
- Las pruebas son para un solo uso.
- El reactivo de **TEST LATEX** contiene materias primas de origen animal y debe manipularse con cuidado.
- Las muestras de los pacientes son potencialmente infecciosas. Deben manipularse con cuidado y respetando las normas de higiene vigentes en el país en cuestión para este tipo de productos.
- Los reactivos contienen azida sódica (<0,1 %).
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad.
- No utilice reactivos de diferentes lotes.
- Deje que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de utilizarlos.
- Agitar suavemente el reactivo de **TEST LATEX** antes de utilizarlo.
- Al dispensar el reactivo de **TEST LATEX**, asegúrese de que el cuentagotas esté exactamente en posición vertical.

Asegúrese de que no haya burbujas de aire en las gotas para garantizar un volumen de dispensación constante.

6 - MUESTREO Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

La prueba puede realizarse de la siguiente manera:

- directamente con cultivos primarios de 24 a 48 horas (agar Sabouraud, agar sangre...);
- o con colonias subcultivadas en agar Sabouraud (cultivo de 24 a 48 horas).

7 - ESTABILIDAD, ALMACENAMIENTO Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Todos los reactivos, almacenados en el envase original a 2-8 °C, son estables hasta la fecha de caducidad indicada en el envase. El producto no debe congelarse. Tras la reconstitución, el reactivo **R-DIS** es estable durante 45 días si se almacena a 2-8 °C. No exponer los reactivos a una luz intensa.

8 - MATERIALES NECESARIOS (no incluidos en el kit)

- Pipeta(s) automática(s) con volumen de pipeteo adaptado al volumen a medir
- Agua dest. - Pipeta Pasteur u ojo de platino - Contenedor para residuos contaminados

9 - REALIZACIÓN DE LA PRUEBA

Deje que los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de utilizarlos.

1. Reconstitución del reactivo R-DIS

a. Retire la tapa exterior y, a continuación, levante ligeramente el tapón sin retirarlo por completo para permitir la entrada de aire en el vial. A continuación, retire el tapón, teniendo cuidado de no perder ningún liofilizado.

b. Añadir la siguiente cantidad de agua destilada al vial:
0,45 mL de agua destilada para el formato de 60 pruebas y 2,5 mL de agua destilada para el formato de 360 pruebas.

c. Estas cantidades deben medirse con precisión.

d. **Vuelva** a cerrar el vial, agítelo boca abajo y disuelva completamente el reactivo liofilizado.

2. Prueba en el portaobjetos

a. Para cada cultivo que se vaya a analizar, pipetea 20 µL de solución de disociación (R-DIS) sobre la superficie de aplicación de un portaobjetos desechable.

b. Utilizando una pipeta Pasteur o un bucle de platino, recoger **3 o 4 colonias** para la prueba.

c. **Separar las colonias** en la gota de solución de disociación (R-DIS) y distribuir las por toda la zona de aplicación.

d. Con el cuentagotas incluido en el kit, aplicar 1 gota del reactivo de **TEST LATEX** previamente homogeneizado sobre la superficie de aplicación.

e. Mezclar con un palillo para remover de un solo uso y repartir por toda la zona de aplicación hasta obtener una suspensión homogénea.

f. Mueva el portaobjetos con un **suave movimiento circular** y espere la posible aparición de aglutinados rojos sobre un fondo verde, que debería producirse en **5 minutos**.

10 - OBSERVACIÓN / LECTURA DE LA REACCIÓN

Reacción positiva: formación de una **aglutinación roja** sobre un **fondo verde** más o menos intenso.

Reacción negativa: No hay aglutinación. La suspensión permanece homogénea y de color **marrón**.

11 - INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

RESULTADO	INTERPRETACIÓN
POSITIVO	La muestra analizada es <i>C. albicans / C. dubliniensis</i> . La diferenciación es posible con ELITex bicolor <i>dubliniensis</i> .
NEGATIVO	La muestra analizada no es <i>C. albicans / C. dubliniensis</i>

12 - CAUSAS DE ERROR Y LIMITACIONES DEL MÉTODO

- Algunas cepas de levadura como la *C. parapsilosis*, cuyo cultivo es difícil de cultivar, provocan la formación de agregados blancos o rojos, pero **sin fondo verde** (fondo rojo o marrón). Por lo tanto, la reacción es negativa.

- En todos los casos, los datos clínicos, epidemiológicos y biológicos deben ser considerados en su totalidad antes de realizar un diagnóstico definitivo.

13 - DATOS DE RENDIMIENTO

ELITex Bicolor albi-dubli consiste en partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos monoclonales del clon «LIB-3H8» desarrollado por la «Micro Sección Departamental 1» de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Valencia en colaboración con el «Laboratorio Integrado de Bioingeniería (LIB) de la Universidad Politécnica de Valencia», España. Este anticuerpo monoclonal garantiza la sensibilidad y especificidad de la reacción.

A. Sensibilidad comparada con la prueba de filamentación (prueba del tubo germinal)

Protocolo:

192 cepas o aislados identificados de *C. albicans* o *C. dubliniensis* (ID. de sistema32C, BioMérieux) fueron sometidos a la prueba **ELITex Bicolor albi-dubli** y a la prueba de filamentación (prueba del tubo germinal) (cultivo de 24 horas a 37 °C en Sabouraud + incubación de las blastosporas durante 3 horas a 37 °C en suero humano + lectura de las pruebas al microscopio invertido).

Resultados:	Positivo	%	Negativo	%
Prueba de filamentación	176	91,66	16	8,33
ELITex Bicolor albi-dubli	192	100	0	
ID.32C	192		0	

Conclusión:

ELITex Bicolor albi-dubli tiene una mejor sensibilidad que la prueba de filamentación (prueba del tubo germinal).

B. Sensibilidad/especificidad comparada con el sistema de identificación ID.32C (14)

Protocolo:

2404 aislados de levaduras, de los cuales 1747 eran *Cándida* del grupo *C. albicans/C. dubliniensis* y 657 eran levaduras distintas de *C. albicans* y *C. dubliniensis* (identificadas por el sistema ID.32C, BioMérieux), fueron analizados con **ELITex Bicolor albi-dubli** después de ser cultivados en agar Sabouraud a 37 °C durante 24 o 48 horas. Se tomaron 3 o 4 colonias y se analizaron con **ELITex Bicolor albi-dubli**.

PRUEBA ID.32C			
		<i>C.albicans / C.dubliniensis</i> (1747)	SIN <i>C.albicans / C.dubliniensis</i> (657)
Resultados:	+	1744 (99,8 %)	4*
	-	3	653 (99,4 %)

* ID.32C identificó estas 4 levaduras como: *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii*

Conclusión:

Los resultados muestran:

- una muy buena correlación (99,7 %) entre el **ELITex Bicolor albi-dubli** y el sistema ID.32C;
- una sensibilidad y especificidad muy elevadas (> 99 %) del **ELITex Bicolor albi-dubli**.

14 - ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

Los residuos deben eliminarse de acuerdo con las normas de higiene y la normativa vigente para este tipo de productos en el país de uso. Si se derrama el reactivo de **TEST LATEX** o la zona de trabajo se contamina con colonias, limpiar con lejía y papel absorbente.

15 - BIBLIOGRAFÍA

1. C.-L. TASCHDIJAN, J.-L. BURCHALL, P.-J. KOZIN – Rapid identification of *Cándida albican* by filamentation on serum and serum substitute – *Am. J. Dis. Child.*, 1960, 99, 212-215.
2. R.-Y. CARTWRIGHT – A simple technique for observing germ tube formation in *Cándida albicans* – *J. Clin. Pathol.*, 1976, 29 (3), 267-268.
3. T. SHINODA, L. KAUFMAN, A.-A. PADHYE – Comparative evaluation of the latex serological *Cándida* check kit and the API 20C kit for identification of medically important *Cándida* species – *J. Clin. Microbiol.*, 1981, 13(3), 513-518.
4. R. GUINET, J. CHANAS, A. GOULLIER, G. BONNEFOY, P. AMBROISE-THOMAS – Fetal speticemia due to amphotericin B-resistant *Cándida lusitanae* – *J. Clin. Microbio.*, 1983, 18(2), 443-444.
5. J.-L. PERRY, G.-R. MILLER - Umbelliferyl-galactosaminide as an aid in identification of *Cándida albicans* - *J. Clin. Microbiol.*, 1988, 25 (12), 2424-2425.
6. H. KOENIG, J. WALLER, M. KREMER - Diagnostic et aspect épidémiologique de 70 000 levures isolées en 8 ans - *Rev. Fr. Lab.*, 1989, 197, 34-38.
7. C.-A. BRIGHTMAN, L.-A. DUMBRECK – The use of microtitre plates to observe germ tube formation in *Cándida albicans* – *Med. Lab. Sci.*, 1989, 46 (3), 270-271.
8. J.-L. PERRY, G.-R. MILLER, D.-L. CARR - Rapid, colorimetric identification of *Cándida albicans* - *J. Clin. Microbiol.*, 1990, 28 (3), 614-615.
9. J. WALLER, H. KOENIG, M. CHAMBLET, M. KREMER - Limites du test de filamentation en sérum pour l'identification de *Cándida albicans* - *J. Mycol. Méd.*, 1991, 1, 144-145.
10. S.-F. DEALLER - *Cándida albicans* colony identification in 5 minutes in a general microbiology laboratory - *J. Clin. Microbiol.*, 1991, 29 (6), 1081-1082.
11. H. FRICKER-HIDALGO, B. LEBEAU, V. LACASSAGNE, P. KERVROEDAN, P. AMBROISE-THOMAS, R. GRILLLOT - Identification rapide de *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis*, *Cándida glabrata*, *Cryptococcus neoformans* par Fongiscreen 4H. Evaluation sur 191 souches de levures - *J. Mycol. Méd.*, 1993, 3, 103-106.
12. A. PAUGAM, J.-M. DUPONT, M.-F. GAVINET, J. DUPOUY-CANET, C. TOURTE-SCHAEFER - Utilisation en pratique hospitalière d'un nouveau milieu de culture : Albicans ID - *J. Mycol. Méd.*, 1993, 3, 121.
13. J. WALLER, H. KOENIG, M. DEBRUYNE, G. CONTANT - Evaluation d'un nouveau milieu d'isolement des levures et de diagnostic rapide de *Cándida albicans* - *Rev. Fr. Lab.*, 1993, 252, 89-92.
14. R. ROBERT, R. SENTANDREU, C. BERNARD, J.-M. SENET - Evaluation du réactif BICHROLATEX ALBICANS® pour l'identification rapide de colonies de *Cándida albicans* - *J. Mycol. Méd.*, 1994, 4 : 226-229.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau

Allée d'Athènes

83870 SIGNES

FRANCE

Tel: 33 (0)4 94 88 55 00

Fax: 33 (0)4 94 32 82 61

http://www.elitechgroup.com

