

ELITex Bicolor dubliniensis

Test al lattice su cartina per
l'identificazione di *Candida dubliniensis*
100 test
(Rif. 44502)

8000020-IT-2012-01

Per uso diagnostico *in vitro*, solo per uso professionale.

Test monouso.



1 - OBIETTIVO

ELITex Bicolor *dubliniensis* è un test di coagulazione su cartina che consente l'identificazione rapida di *Candida dubliniensis*, direttamente a partire da colonie. Un cofanetto permette di effettuare 100 test.

2 - INTRODUZIONE

I lieviti del genere *Candida* possono causare candidosi cutanea, candidosi mucosa, candidemia o candidosi invasiva.

I *Candida* sono di solito lieviti commensali delle mucose digestive e urogenitale. Diventano patogeni solo quando nell'organismo ospite si presentano condizioni favorevoli. Tra i fattori che favoriscono l'infezione da candidosi vi sono fattori fisiologici o patologici intrinseci (età estreme della vita, gravidanza, diabete, carenze immunitarie e malattie maligne) ed estrinseci che sono essenzialmente di natura iatrogena. La prevalenza della candidosi è aumentata considerevolmente negli ultimi vent'anni, in seguito all'emergere di malattie quali l'AIDS, all'uso diffuso di terapie antibiotiche e contraccettivi orali, allo sviluppo di terapie immunosoppressive, all'alimentazione parenterale, alla proliferazione di metodi investigativi aggressivi e di interventi chirurgici. Ad esempio, le candidemie rappresentano circa il 10% di tutte le infezioni nosocomiali, questa percentuale può anche raggiungere il 20% secondo alcuni studi. Inoltre, la loro prognosi rimane molto infausta, con una mortalità nei pazienti fungemici che oscilla tra il 38 e il 50%.

C. albicans è la specie isolata più spesso. Rappresenta dal 60 all'80% degli isolati clinici. Tuttavia, altre specie come *C. dubliniensis*, una specie molto simile a *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis*, *C. lipolytica*, sono segnalate sempre più spesso come agenti di micosi.

Dal 1995 è stata identificata una nuova specie di *Candida*: *C. dubliniensis*. Questa specie, vicina a *C. albicans*, condivide con quest'ultima molte caratteristiche fenotipiche come la capacità di produrre tubetti germinativi e clamidospore.

La differenziazione di queste due specie è facile con le tecniche di biologia molecolare, che sono comunque lunghe da effettuare e che richiedono un'apparecchiatura adatta.

ELITex Bicolor *dubliniensis* è un test rapido di identificazione di *C. dubliniensis*, che utilizza particelle di lattice sensibilizzate con un anticorpo monoclonale specifico per questa specie di *Candida*. Questo test permette di distinguere tra *C. albicans* e *C. dubliniensis*.

3 - PRINCIPIO

ELITex Bicolor *dubliniensis* si basa sul principio della coagulazione di blastospore di *C. dubliniensis* con particelle di lattice blu (sospese in un colorante di contrasto rosso) sensibilizzate da un anticorpo monoclonale, che riconosce specificamente un antigene sulla superficie di questo lievito.

Quando colonie di *C. dubliniensis* sono dissociate nel reagente TEST LATEX la coagulazione tra blastospore e particelle di lattice provoca una reazione positiva caratterizzata dalla comparsa di agglutinati blu (che possono formare un bordo) su uno sfondo rosso/rosato, visibili a occhio nudo.

Con colonie di lievito non *C. dubliniensis* e in particolare con *C. albicans*, non si osserva agglutinazione. La sospensione resta omogenea e di colore violetto uniforme. La manipolazione è semplice e veloce. I risultati si ottengono in 3 o 5 minuti.

4 - REAGENTI E MATERIALI

Descrizione	Quantità
TEST LATEX: fiala da 2 mL di lattice sensibilizzato	1
TEST CARD: cartina monouso	13
STICK: agitatore monouso	100

5 - PRECAUZIONI D'IMPIEGO

- Il reagente è destinato esclusivamente alla diagnosi *in vitro* e deve essere maneggiato da personale autorizzato. I test sono monouso.
- Il reagente TEST LATEX contiene sostanze di origine animale e deve essere maneggiato con le precauzioni per l'uso.
- Il reagente TEST LATEX contiene azoto di sodio (< 0,1%).
- I campioni sono potenzialmente infettivi. Essi devono essere maneggiati con le

precauzioni per l'uso, nel rispetto delle norme igieniche e dei regolamenti vigenti nel paese di utilizzo.

- Non usare il reagente TEST LATEX dopo la data di scadenza.
- Attendere che il reagente TEST LATEX sia stabile a temperatura ambiente.
- Agitare accuratamente il reagente TEST LATEX prima dell'uso.

6 - RACCOLTA DEI CAMPIONI

Il test può essere eseguito:

- direttamente dalla coltura primaria di 24, 48 o 72 ore (agar Sabouraud, Candidiselect®, CHROMagar Candida®, Candida ID®, agar al sangue);
- dopo il trapianto su agar Sabouraud (coltura di 24, 48 o 72 ore).

7 - CONSERVAZIONE E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il reagente è pronto all'uso.

Il reagente conservato a 2-8 °C è stabile fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Non deve essere congelato.

Non lasciare il reagente TEST LATEX sotto luce intensa.

8 - MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

- Pipette automatiche con volume di pipettaggio adeguato alla quantità da misurare
- Pipetta Pasteur o ansa
- Contenitore per rifiuti contaminati

9 - MODALITÀ OPERATIVA

Lasciare stabilizzare il reagente TEST LATEX a temperatura ambiente prima dell'uso.

- Mettere 20 µL di reagente TEST LATEX precedentemente omogeneizzato in un cerchio della cartina, per ciascuna coltura da testare.
- Con una pipetta Pasteur o un'ansa o un agitatore del cofanetto, prelevare 2 o 3 colonie di età compresa tra 24 e 72 ore.
- Dissociare il campione di coltura nella goccia di reagente TEST LATEX e distribuirlo su tutta la superficie del cerchio fino a ottenere una sospensione omogenea.
- Imprieme alla cartina un movimento lento circolare oscillante per 3 - 5 minuti e osservare la possibile comparsa di agglutinati blu su uno sfondo rosa o rosso o violetto.

10 - LETTURA

Reazione positiva: formazione di agglutinato blu su fondo rosa o rosso o violetto, visibili a occhio nudo, che possono formare un bordo blu che circonda un'area rosa o violetta.

Reazione negativa: assenza di agglutinazione. La sospensione rimane omogenea e violetta.

11 - INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

RISULTATO	INTERPRETAZIONE
POSITIVO	Il ceppo testato è identificato come <i>Candida dubliniensis</i>
NEGATIVO	Il ceppo testato non è <i>Candida dubliniensis</i> se un ceppo è stato precedentemente identificato come appartenente al gruppo <i>C. albicans</i> / <i>C. dubliniensis</i> (mezzi cromogenici, ELITex Bicolor albi-dubli...) un risultato negativo consente di concludere che tale ceppo è <i>Candida albicans</i> .

12 - CAUSE DI ERRORI E LIMITAZIONI DEL TEST

- Per rilevare una possibile associazione *C. albicans* / *C. dubliniensis*, si raccomanda di effettuare diversi test a partire dalla stessa coltura.
- Alcuni ceppi di lievito non *C. dubliniensis* (ad esempio *C. parapsilosis*), la cui coltura è difficile da dissociare, provocano la formazione di aggregati bianchi che non possono essere confusi con gli agglutinati blu. Quindi la reazione è quindi negativa.
- In tutti i casi e prima della diagnosi finale, l'interpretazione del test deve essere effettuata integrando tutti i dati clinici, epidemiologici e biologici, nonché i risultati degli altri test.

13 - PRESTAZIONI

ELITex Bicolor *dubliniensis* è costituito da particelle di lattice sensibilizzate da un anticorpo monoclonale che assicura la specificità e la sensibilità della reazione. Uno studio, condotto su 200 isolati o ceppi di lievito, ha stabilito le prestazioni del prodotto ELITex Bicolor *dubliniensis* rispetto agli strumenti di biologia molecolare e al sistema ID32C (bioMérieux). I risultati mostrano una sensibilità del 98% e una specificità del 100%.

L'elevata sensibilità del test ne permette la realizzazione con un numero di colonie da una a dieci senza fenomeni di zona.

14 - SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

I rifiuti devono essere smaltiti in conformità con le norme igieniche e i regolamenti vigenti per questo tipo di reagenti nel Paese di utilizzo.

In caso di sversamento accidentale di reagente TEST LATEX o in caso di contaminazione dell'ambiente da parte di colonie, pulire con candeggina e carta assorbente.

15 - BIBLIOGRAFIA

- ADOU-BRYN, K., DOUCHET, C., FERRER, A., GRIMAUD, L., ROBERT, R. AND RICHARD-LENOBLE, D., 2003. Morphological features of *Candida dubliniensis* on a modified Pa's medium. Preliminary study. *J. Mycol. Méd.*, 13 : 99-103.
- AL-MOSAID, A., SULLIVAN, D., COLEMAN, D.C., 2003. Differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans* on Pa's agar. *J. Clin. Microbiol.*, 41: 4787-4789.
- AL-MOSAID, A., SULLIVAN, D., SALKIN, I. F., SHANLEY, D., COLEMAN, D. C., 2001. Differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans* on Staib agar and caffeic acid-ferric citrate agar. *J. Clin. Microbiol.*, 39 : 323-327.
- BIKANDI, J., SAN MILLÁN, R., MORAGUES, M. D., CEBAS, G., CLARKE, M., COLEMAN, D. C., SULLIVAN, D. J., QUINDOS, G., PONTON, J., 1998. Rapid identification of *Candida dubliniensis* by indirect immunofluorescence based on differential localization of antigens on *C. dubliniensis* blastospores and *Candida albicans* germ tubes. *J. Clin. Microbiol.*, 36 : 2428-2433.
- COLEMAN, D., SULLIVAN, D., BENNET, G. P., MORAN, G., BARRY, H., SHALEY, D., 1997a. Candidiasis, the emergence of a novel species, *Candida dubliniensis*. *AIDS*, 11 : 557-567.
- COLEMAN, D., SULLIVAN, D., HAYNES, M., HENMAN, M., SHANLEY, D., BENNET, D., 1997b. Molecular and phenotypic analysis of *Candida dubliniensis*, a recently identified species linked with oral candidiasis in HIV-infected and AIDS patients. *Oral Dis*, 3 : 96-101.
- DONNELLY, S. M., SULLIVAN, D. J., SHANLEY, D. B., COLEMAN, D. C., 1999. Phylogenetic analysis and rapid identification of *Candida dubliniensis* based on analysis of ACT1 intron and exon sequences. *Microbiology*, 145 : 1871-1882.
- GUTIERREZ, J., MORALES, P., GONZALES, M. A., QUINDOS, G., 2002. *Candida dubliniensis*, a new fungal pathogen : review. *J. Basic Microbiol.*, 42 : 207-227.
- JOLY, S., PUJOL, C., RYSZ, M., VARGAS, K., SOLL, D. R., 1999. Development and characterization of complex DNA fingerprinting probes for the infectious yeast *Candida dubliniensis*. *J. Clin. Microbiol.*, 37 : 1035-1044.
- KURZAI, O., HEINZ, W. J., SULLIVAN, D. J., COLEMAN, D. C., FROSCHE, M., MUHLSCHLEGEL, F. A., 1999. Rapid PCR test for discriminating between *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* isolates using primers derived from the pH-regulated PHR1 and PHR2 genes of *Candida albicans*. *J. Clin. Microbiol.*, 37 : 1587-1590.
- MAROT-LEBLOND, A., GRIMAUD, L., NAIL, S., BOUTERIE, S., APAIRE-MARCHEAIS, V., SULLIVAN, D. J., ROBERT, R., 2000. New monoclonal antibody specific for *Candida albicans* germ tube. *J. Clin. Microbiol.*, 38 : 61-67.
- MEYER, W., MASZEWSKA, K., SORREL, T. C., 2001. PCR fingerprinting, a convenient molecular tool to distinguish between *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. *Med. Mycol.*, 39 : 185-193.
- ODDS, F. C., NUFFEL, L. V., DAMS, G., 1998. Prevalence of *Candida dubliniensis* isolates in a yeast stock collection. *J. Clin. Microbiol.*, 36 : 2869-2873.
- PARK, S., WONG, M., MARRAS, S. A., CROSS, E. W., KIEHN, T. E., CHATURVEDI, V., TYAGI, S., PERLIN, D. S., 2000. Rapid identification of *Candida dubliniensis* using a species-specific molecular beacon. *J. Clin. Microbiol.*, 38 : 2829-2836.
- PELTROCHE-LACSAHUANGA, H., SCHMIDT, S., SEIBOLD, M., LUTTICKEN, R., HAASE, G., 2000. Differentiation between *C. dubliniensis* and *C. albicans* by fatty acid methyl ester analysis using gas liquid chromatography. *J. Clin. Microbiol.*, 38 : 3696-3704.
- PINJON, E., SULLIVAN, D., SALKIN, I., SHANLEY, D., COLEMAN, D. C., 1998. Simple inexpensive, reliable method for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J. Clin. Microbiol.*, 6 : 2093-2095.
- STAIB, P., MORSCHHAUSER, J., 1999. Chlamydo-spore formation on Staib agar as species-specific characteristic of *Candida dubliniensis*. *Mycoses*, 42 : 521-524.
- SULLIVAN, D., COLEMAN, D., 1998. *Candida dubliniensis*, characteristics and identification. *J. Clin. Microbiol.*, 36 : 329-334.
- SULLIVAN, D. J., MORAN, G., DONNELLY, S., GEE, S., PINJON, E., MCCARTAN, B., SHANLEY, D. B., COLEMAN, D. C., 1999. *Candida dubliniensis*, An update. *Rev. Iberoam. Micol.*, 16 : 72-76.
- SULLIVAN, D. J., WESTERNENG, T. J., HAYNES, K. A., BENNET, D. E., COLEMAN, D. C., 1995. *Candida dubliniensis* sp. nov., phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology*, 141 : 1507-1521.
- WILLIAMS, D. W., COULTER, W. A., WILSON, M. J., POTTS, A. J., LEWIS, M. A. O., 2001. Identification of *Candida dubliniensis*, based on ribosomal DNA sequence analysis. *Br. J. Biomed. Sci.*, 58 : 11-16.
- MAROT-LEBLOND, A., BEUCHER, B., DAVID, S., NAIL-BILLAUD, S., ROBERT, R., 2006. Development and evaluation of a rapid latex agglutination test using a monoclonal antibody to identify *Candida dubliniensis* colonies. *J. Clin. Microbiol.*, 44 : 138-142.
- SAHAND, I.H., MORAGUES, M.D., ROBERT, R., QUINDOS, G., PONTON, J., 2006. Evaluation of Bichro-dubli distinguish *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 55 : 165-167.
- CHRYSANTHOU, E., FERNANDEZ, V., PETRINI, B., 2007. Performance of commercial latex agglutination tests for the differentiation of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans* in routine diagnostics. *APMIS*, 115: 1281-1284.

I cambiamenti rispetto alla versione precedente sono evidenziate in grigio.



ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau

allée d'Athènes

83870 SIGNES

FRANCE

☎: 33 (0)4 94 88 55 00

Fax: 33 (0)4 94 32 82 61

http://www.elitechgroup.com