

ELIchrom *glabrata*

Test rapido per l'identificazione della *Candida glabrata*

40 Test
(art. 44506)

8000050-IT-2012-05

Per diagnostica *in vitro*, per uso professionale.
I test sono esclusivamente monouso.



1 - OBIETTIVO

ELIchrom *glabrata* è un test rapido (20 minuti) e unitario per l'identificazione rapida di colonie di *Candida glabrata*.

Un kit permette di eseguire 40 test.

2 - INTRODUZIONE

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

La *Candida* è un lievito commensale della mucosa digestiva e urogenitale. Diventa patogeno solo quando nell'organismo ospite sussistono condizioni favorevoli. I fattori che favoriscono l'infezione da candidosi comprendono fattori fisiologici o patologici intrinseci (età avanzata, gravidanza, diabete, immunodeficienza e malattie maligne) e fattori estrinseci di natura essenzialmente iatrogena. La prevalenza della candidosi è aumentata in modo significativo negli ultimi vent'anni a causa della comparsa di malattie come l'AIDS, dell'uso diffuso di antibiotici e contraccettivi orali, dello sviluppo di terapie immunosoppressive, della nutrizione parenterale, della diffusione di metodi di esame aggressivi e di procedure chirurgiche. Ad esempio, la candidemia è responsabile di circa il 10% di tutte le infezioni nosocomiali e, secondo alcuni studi, questa percentuale può raggiungere il 20%. Inoltre, la prognosi rimane molto sfavorevole, con una mortalità nei pazienti affetti da micosi che varia tra il 38 e il 50%.

C. albicans è la specie più frequentemente isolata. Rappresenta il 60-80% degli isolati clinici. Tuttavia, altre specie come *C. dubliniensis*, una specie molto vicina a *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis*, *C. lipolytica*, sono sempre più spesso segnalate come agenti micotici.

Secondo alcuni studi, *C. glabrata* rappresenta dal 5 al 25% degli isolamenti di lieviti in micologia medica. In termini di frequenza, questo lievito è attualmente la seconda specie presente nell'uomo. Il suo carattere patogeno non è oggi più controverso, essendo responsabile del 10-25% delle candidature. Inoltre, *C. glabrata* è generalmente meno sensibile ai derivati azolici e alcuni isolati di pazienti trattati con fluconazolo o ketoconazolo sembrano essere resistenti a quasi tutti i derivati azolici.

L'isolamento e la rapida identificazione di *C. glabrata* sono quindi essenziali per l'inizio di una terapia appropriata. Normalmente, questa identificazione viene effettuata con test biochimici, auxanogrammi del carbonio (che studiano l'assimilazione dell'Ose come fonte di carbonio e di energia) e zimogrammi (che studiano l'uso dell'Ose nell'anaerobiosi), che richiedono un tempo di reazione relativamente lungo, da 24 a 48 ore.

C. glabrata può essere identificata più rapidamente con sistemi basati sulla rilevazione di enzimi preformati utilizzando substrati cromogenici o basati sull'assimilazione di trealosio. ELIchrom *glabrata* è un test rapido per l'identificazione di *C. glabrata* basato sulla rilevazione di questo enzima.

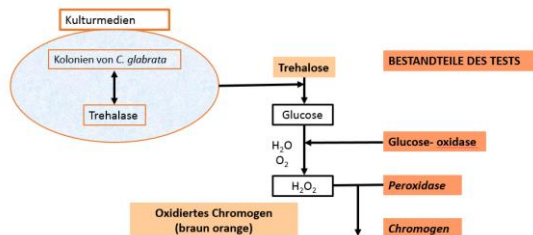
3 - PRINCIPIO

Tra i lieviti di interesse medicinale, *C. glabrata* può idrolizzare molto rapidamente il trealosio in glucosio in determinate condizioni. La rivelazione di questa produzione di glucosio permette di identificare il lievito. Oltre ai test del trealosio, tuttavia, è necessario effettuare due controlli:

- un controllo del maltosio, poiché alcuni isolati di *C. tropicalis* possono anche degradare il trealosio, ma a differenza di *C. glabrata*, ingeriscono il maltosio;
- un controllo in assenza di ose (controllo del terreno basale del reagente), poiché i terreni isolati contengono glucosio e un cattivo campione di colonia contenente agar potrebbe portare a una reazione falsamente positiva.

ELIchrom *glabrata* consente di eseguire un test trifasico per l'identificazione di *C. glabrata*:

1. preparazione di una sospensione di lievito in acqua distillata.
2. Incubazione della sospensione di lievito con trealosio o maltosio (controllo del lievito) o terreno di base (controllo del terreno isolante).
3. Rivelazione del glucosio da parte dello sviluppatore, che è una miscela di glucosio ossidasi, perossidasi e substrato cromogenico.



4 - REAGENTI E MATERIALI

Descrizione	Numero
REAG: provetta di reagente liofilizzato	3
(da ricostituire con 1,3 ml di acqua distillata sterile)	
SCHEDA DEL TEST: cartine da 12 pozzetti, quindi 4 identificazioni	10
i pozzetti T contengono un terreno di base e trealosio	
i pozzetti M contengono un terreno di base e maltosio	
i pozzetti B contengono un terreno di base	

5 - PRECAUZIONI D'USO

- ELIchrom *glabrata* è destinato alla diagnosi *in vitro* solo da parte di personale autorizzato. I test sono esclusivamente monouso.
- Assicurarsi che i terreni disidratati non siano alterati (presenza di una macchia blu in tutti i pozzetti).
- I campioni sono potenzialmente infettivi. Devono essere trattati con le consuete misure precauzionali e nel rispetto delle norme igieniche vigenti nel Paese di utilizzo.
- Mai utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.
- Mai utilizzare reagenti di lotti diversi.
- Attendere che i reagenti si equilibrino a temperatura ambiente.

- SCHEDA DEL TEST: T: Tossico.

Contiene cloramfenicolo.

-R45: cancerogeno.

-S45: In caso di incidente o malessere consultare immediatamente un medico. (se possibile, mostragli l'etichetta).

-S53: evitare l'esposizione, procurarsi speciali istruzioni prima dell'uso.

- REAG: T: Tossico.

Contiene glucosio ossidasi e 3,3-dimetossibenzide dicloridrato.

-R22: Nocivo in caso di ingestione

-R42: può provocare sensibilizzazione per inalazione.

-R45: cancerogeno.

-S22: non respirare la polvere.

-S45: in caso di incidente o malessere, consultare immediatamente un medico (se possibile, mostrargli l'etichetta).

-S53: evitare l'esposizione, procurarsi speciali istruzioni prima dell'uso.



T



T

6 - PRELIEVO DEL CAMPIONE

ELIchrom *glabrata* può essere eseguito su lieviti isolati dopo coltura a +37 °C o +22 °C per 24-96 h su terreni Sabouraud e su terreni cromogenici per *Candida*.

7 - CONSERVAZIONE E PRODUZIONE DEI REAGENTI

Conservare la SCHEDA DEL TEST e il reagente REAG (liofilizzato o ricostituito) a 2-8 °C e al riparo dalla luce.

Dopo la ricostituzione, il reagente REAG è stabile per 2 mesi a 2-8 °C.

La durata di conservazione del reagente REAG ricostituito può essere estesa a 6 mesi congelando (-20 °C) quantità da 75 µl (in microprovette accuratamente sigillate) subito dopo la ricostituzione. Una volta scongelato, il reagente REAG non può essere nuovamente congelato.

8 - MATERIALE NECESSARIO MA NON INCLUSO NELLA FORNITURA

- Pipetta/e automatica/e con un volume di pipettaggio adeguato alla quantità da misurare
- Tubicini emolitici
- Tubicini emolitici
- Contenitore per rifiuti contaminati
- Acqua distillata sterile
- Pipetta Pasteur o occhio

9 - PROCEDIMENTO

Lasciare che i reagenti si equilibrino a temperatura ambiente prima dell'uso.

1 Ricostituzione del reagente REAG:

- aprire delicatamente il reagente REAG (provetta sottovuoto).
- Aggiungere 1,3 ml di acqua distillata sterile alla provetta e agitare delicatamente.

2 Esecuzione del test:

- Prendere 1 o più SCHEDE DEL TEST a seconda del numero di lieviti da testare (per un lievito, tagliare una scheda in modo che abbia i 3 pozzetti T, M e B).
- Selezionare un tubicino per emolisi e aggiungere 100 µl di acqua distillata sterile.
- Prelevare con cura le colonie di lievito da identificarle e omogeneizzarle in 100 µl di acqua distillata per ottenere una densità di sospensione corrispondente al punto 5 dell'intervallo di Mc Farland (da 3 a 4 colonie se la coltura è stata effettuata su terreno Sabouraud e da 3 a 2 seconda delle dimensioni delle colonie se la coltura è stata effettuata su un terreno cromogenico).
- Aggiungere 25 µl della sospensione di lievito preparata a ciascuno dei punti blu T, M e B utilizzando una micropipetta.
- Lasciare in incubazione per 10 minuti a temperatura ambiente (prolungare il tempo di incubazione di 10 minuti non influisce sul risultato finale).
- Aggiungere 25 µl di reagente REAG in ciascuno dei pozzetti T, M e B utilizzando una micropipetta.
- Lasciare in incubazione per 5-10 minuti a temperatura ambiente.
- Eseguire la lettura.

IMPORTANTE: se la lettura deve essere ritardata, la reazione deve essere bloccata aggiungendo 25 µl di H₂SO₄ (3 M) in ogni pozzetto. In caso di reazione positiva, il colore diventa marrone/grigio, poi fucsia e, in caso di reazione negativa, si osserva un colore leggermente bluastro.

10 - LETTURA

Reazione positiva: comparsa di una colorazione arancione più o meno scura

Reazione negativa: nessuna decolorazione

11 - INTERPRETAZIONE DEGLI ESITI

RISULTATI			CONCLUSIONI
POZZETTO T (Trealosio)	POZZETTO M (Maltosio)	POZZETTO B (Terreno di base)	
Positivo	Negativo	Negativo	<i>C. glabrata</i> .
Negativo	Negativo	Negativo	Lievito non <i>C. glabrata</i> . Continuare l'identificazione.
Positivo	Positivo	Negativo	Lievito non <i>C. glabrata</i> . Continuare l'identificazione.
Negativo	Positivo	Negativo	Lievito non <i>C. glabrata</i> . Continuare l'identificazione.
Positivo	Positivo	Positivo	Non interpretabile. Ripetere i test prelevando con cautela le colonie di lievito senza agar.

12 - CAUSE DI ERRORI E LIMITAZIONI DEL TEST

Non rimuovere l'agar contemporaneamente alle colonie, poiché ciò potrebbe portare a risultati non interpretabili. In tutti i casi, è necessario integrare tutti i dati clinici, epidemiologici e biologici prima di formulare la diagnosi finale.

13 - PRESTAZIONI

I risultati delle valutazioni di ELIchrom *glabrata* mostrano una sensibilità compresa tra il 93,8 e il 97,9% (97,9% per i terreni Candida ID, CandiSelect e Sabouraud e 93,8% per il terreno CHROMagar candida) e una specificità compresa tra il 97,6 e il 98,8% (98,8% per i terreni Sabouraud e CHROMagar candida, 98% per il terreno Candida ID e 97,6% per il terreno CandiSelect), a seconda del terreno isolante utilizzato. (Raymond Robert - Laboratorio di Parassitologia/Micologia, Facoltà di Farmacia, 49100 Angers e Anne-Marie Freydière - Laboratorio di Microbiologia, Ospedale Debrousse, hospices Civils de Lyon, 69322 Lione).

14 - SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità con le norme igieniche applicabili a questo tipo di reagente nel Paese di utilizzo. In caso di fuoriuscita accidentale del reagente o di contaminazione dell'ambiente da parte del lievito, pulire con candeggina e carta assorbente.

15 - BIBLIOGRAFIA

1. Abi-said D., Anaissie E., Uzun O., Raad L., Pinzcowski H., and Vartivarian S. 1997. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. *Clin. Infect. Dis.* 24:1122-1128.
2. Bouchara J., Pe, Declerck P., Cimon B., Planchenault C., de Gentile L., Chabasse D. 1996. Routine use of CHROMagar *Candida* medium for presumptive identification of *Candida* yeast species and detection of mixed fungal populations. *Clin Microbiol Infect* 2:202-208
3. Fenn J. P., Billedeau E., Segal H., Skodack-Jones L., Padilla PE., Bale M., Carroll K. 1999. Comparison of four methodologies for rapid and cost-effective identification of *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol.* 37:3387-9.
4. Fidel P. L., Vazquez J. A., Sobel J. D. 1999. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev.* 12:80-96.
5. Freydière A. M., Guinet R., and Boiron P. 2001. Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypical methods. *Med. Mycol.* 39:9-33.
6. Lopez J., Dalle F., Mantelin P., Moiroux P., Nierlich A. C., Pacot A., Cuisenier B., Vagner O., and Bonnin A. 2001. Rapid identification of *Candida glabrata* based on trehalose and sucrose assimilation using Rosco diagnostic tablets. *J. Clin. Microbiol.* 39:1172-1174.
7. Parant F., Freydière A. M., Gille Y., Boiron P., and Odds F. C. 2001. A 'one minute' trehalase detection test for the identification of *Candida glabrata*. *J. Mycol. Med.* 11:26-31
8. Peltroche-Lacsahauanga H., Schnitzler N., Lüticken R., Haase G. 1999. Rapid identification of *Candida glabrata* by using a Dipstick to detect trehalase-generated glucose. *J Clin Microbiol.* 37:202-5.
9. Pfaller M. A., Diekema D. J., Jones R. N., sader H., S., Fluit A., C., Hollis R., J., Messer S., A. 2001. International surveillance of blood stream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and *in vitro* susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. *J Clin. Microbiol.* 39:3254-9.
10. Pfaller M. A., Messer S. A., Hollis R. J., Jones R. N., Doern G. V., Brandt M. E., and Hajjeh R. A. 1999. Trends in species distribution and susceptibility to fluconazole among blood stream isolates of *Candida* species in the United States. *Diag. Microbiol. Infect.* Dis. 33:217-222.
11. Senet J-M., Robert R. 1995. Physiopathology of candidosis. *J. Mycol. Med.* 5:145-166.
12. Freydière A-M., Robert R., Ploton C., Marot-Leblond A., Monereau F., Vandenesch F. 2003 Aug. Rapid identification of *Candida glabrata* with a new commercial test, GLABRATA RTT. *J Clin Microbiol.* 41(8) : 3861-3.
13. Freydière A-M., Perry J-D, Faure O., Willinger B., Tortorano A-M., Nicholson A., Peman J., Verweij P-E. 2004 Oct. Routine use of a commercial test, GLABRATA RTT, for rapid identification of *Candida glabrata* in six laboratories. *J Clin Microbiol.* 42(10) : 4870-2.
14. Peman J., Aparisi N., Garcia-Esteban C., Gombardo M., 2004 Jun. Rapid identification of *Candida glabrata* using a new commercial kit *Rev Iberoam Microbiol.* 21(2): 82-4.
15. Willinger B., Wein S., Hirschl A-M., Rotter M-L., Manafi M. 2005 Jan. Comparison of a new commercial test, GLABRATA RTT, with a dipstick test for rapid identification of *Candida glabrata*. *J Clin Microbiol.* 43(1) : 499-501.

Le modifiche apportate all'ultima revisione sono evidenziate in grigio.

ELITech MICROBIO

Parc d'activités du Plateau
allée d'Athènes
83870 SIGNES

FRANCIA

☎: 33 (0)4 94 88 55 00

Fax.: 33 (0) 4 94 32 82 61

http://www.elitechgroup.com

