

## ELITex Bicolor dubliniensis

Skličkový aglutinační test pro rychlou identifikaci *Candida dubliniensis*

100 testů  
(Kat.č. 44502)

8000020-en-2010-02

### 1 - ZÁMĚR

ELITex Bicolor dubliniensis je skličkový aglutinační test pro rychlou identifikaci *Candida dubliniensis*, přímo z izolovaných kolonií. Každý kit umožňuje provedení 100 testů.

### 2 - ÚVOD

Kvasinky rodu *Candida* mohou být odpovědné za kutánní kandidózy, mukosální kandidózy a kandidémie nebo invazivní kandidózy. *Candidas* jsou obvykle komenzální kvasinky trávících nebo urogenitálních sliznic. Stávají se patogenními jen pokud v hostiteli vzniknou příznivé podmínky. Mezi těmito faktory, které podporují kandidovou infekci jsou vnitřní fyziologické faktory nebo onemocnění (pokročilý věk, těhotenství, diabetes, imunologické deficiencie a nádorové onemocnění). Jako vnější faktor se primárně udává iatrogenic in nature. Prevalence kandidóz významně vzrostla během posledních dvaceti let, jako důsledek vzniku onemocnění jako jsou AIDS, generalizovaní antibiotické léčby a antikoncepčních pilulek, vývoje terapeutických imunosupresivních činidel, parenterální výživy a zmnohonásobení agresivních vyšetřovacích metod a chirurgických zákroků. Například kandidémie odpovídají za přibližně 10% nokozomiálních infekcí, podle určitých studií může jít až 20%. Navíc prognóza kandidózy je špatná, s úmrtností postižených pacientů pohybující se mezi 38 a 50%. *C. albicans* je nejčastěji izolovaným druhem. Odpovídá za 60 až 80% klinických izolátů. Avšak další druhy jako jsou *C. dubliniensis* (druh velmi blízký *C. albicans*), *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis* a *C. lipolytica*, jsou stále častěji uváděny jako organismy způsobující mykózu.

Od roku 1995 byla identifikována nová *Candida* : *C. dubliniensis*. Tento druh blízký k *C. albicans*, sdílí s *C. albicans* mnoho fenotypových znaků, jako je schopnost produkovat zárodečné klíčky a chlamydospory. Oba tyto druhy mohou být snadno rozlišeny pomocí metod molekulární biologie: avšak metod časově zdlouhavých a vyžadující speciální přístroje. ELITex Bicolor dubliniensis je rychlý test umožňující identifikaci *C. dubliniensis*, který využívá latexové částice senzibilizované specifickými monoklonálními protilátkami proti *C. dubliniensis*. Tento test umožňuje diferenciaci mezi *C. albicans* a *C. dubliniensis*.

### 3 - PRINCIP

ELITex Bicolor dubliniensis test je založený na koaglutinaci *C. dubliniensis* blastospor s modrými latexovými částicemi v suspenzi červeného barviva. Latexové částice jsou senzibilizované monoklonálními protilátkami, které specificky detekují povrchové antigeny *C. dubliniensis*. Disociace kolonií *C. dubliniensis* v reagenicii TEST LATEX vede k aglutinaci mezi blastosporami a latexovými částicemi. Tato pozitivní reakce končí modrou aglutinací (která se může postupně šířit směrem k okraj) na červeném pozadí. Aglutinace je viditelná pouhým okem. Při testování non-*C. dubliniensis* kolonií, a obzvláště s *C. albicans* koloniemi, není pozorována žádná aglutinace. Suspenze zůstává homogenní a má růžové zbarvení. Manipulace s testem je jednoduchá a rychlá a výsledky jsou dostupné v 5 minutách.

### 4 - REAGENCIE

Popis	Množství
TEST LATEX: lahvička obsahující 2 ml senzibilizovaného latexu	1
TEST CARD: Jednorázové reakční kartičky	13
STICK: Jednorázová míchadélka	120

### 5 - BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Reagencie jsou určeny pouze pro in vitro použití a musí s nimi zacházet pouze vyškolený personál
- Reagencie TEST LATEX obsahuje neopracovaný materiál živočišného původu a musí s ním být zacházeno s opatrností.
- Reagencie TEST LATEX obsahuje azid sodný (<0.1 %).
- Vzorky jsou potenciálně infekční, musí se s nimi zacházet opatrně v souladu s hygienickými pravidly a aktuálními předpisy pro daný typ produktu a země jeho použití. Nepoužívejte reagencii TEST LATEX po datu expirace.
- Před použitím nechte reagencii TEST LATEX vytemperovat na pokojovou teplotu.

- Reagencii TEST LATEX před použitím opatrně promíchejte

Test může být proveden:

#### 6 - ODBĚR VZORKU

- buď přímo z 24, 48 až 72 hod primární kultury (Sabouraud agar, Candiselect®, CHROMagar Candida®, Candida ID®, blood agar...);
- nebo po přeočkování na Sabouraud agar (24, 48 až 72 hod kultura).

#### 7 - STABILITA, UCHOVÁVÁNÍ A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Reagencie jsou připravené k použití

Všechny reagencie skladované při 2-8 °C, v jejich originálním obalu jsou stabilní do data expirace uvedeného na obalu. Nezamrazujte.

Neuvystavujte reagencii TEST LATEX silnému světlu.

#### 8 - POŽADOVANÝ, ALE NEDODÁVANÝ MATERIÁL

- Automatické pipety s objemem přízpusobeným měřenému objemu
- Pasteurovy pipety nebo klíčky
- Nádoba na kontaminovaný odpad

#### 9 - METODA

Před použitím nechte reagencie vytemperovat na pokojovou teplotu.

- Pro každou testovanou kulturu napipetujte 20 µl homogenizované reagenicie TEST LATEX do vlastního kruhu na kartičce.
- S použitím Pasteurovy pipety, klíčky nebo míchadélka odeberte 2-3 kolonie z 24, 48 až 72 hodinové kultury
- Kolonie naneste do kapky reagenicie TEST LATEX a rozetřete je po celém povrchu kruhu až do získání homogenní suspenze.
- 3-5 minut kartičkou manuálně pohybujte kolébavým pohybem. Pozorujte možný vznik modré aglutinace na růžovém nebo červeném pozadí.

#### 10 - ODEČET

**Pozitivní reakce:** Vznik modré aglutinace viditelné pouhým okem na růžovém, červeném nebo fialovém pozadí. Aglutinace se může šířit směrem k okraj a vytvářet tak modrý lem okolo centrálního růžového nebo fialového pozadí.

**Negativní reakce:** Nepřítomnost aglutinace. Suspenze zůstává homogenní a růžově zbarvená.

#### 11 - INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

VÝSLEDEK	INTERPRETACE
POZITIVNÍ	Testovaný kmen patří mezi druhy <i>Candida dubliniensis</i> .
NEGATIVNÍ	Testovaný kmen není <i>Candida dubliniensis</i> Pokud byl předtím testovaný kmen identifikován jako člen skupiny <i>Candida albicans</i> / <i>Candida dubliniensis</i> (chromogenní médium, ELITex Bicolor albi-dubli...), negativní výsledek umožňuje konfirmovat kmen jako <i>Candida albicans</i> .

#### 12 - PŘÍČINY CHYB A LIMITY TESTU

- Pro detekci skupiny *Candida albicans* / *Candida dubliniensis* je doporučeno provést několik testů z jedné kultury.

- Některé non-*C. dubliniensis* kmeny kvasinek (např. *C. parapsilosis*), jejichž kultury je velmi obtížné disociovat, vytvářejí bílé agregáty, které si nelze splést s modrou aglutinací. Reakce je proto negativní.

- Ve všech případech je nutné před stanovením finální diagnózy brát v úvahu klinická, epidemiologická a biologická data.

#### 13 - CHARAKTERISTIKA TESTU

ELITex Bicolor dubliniensis obsahuje latexové částice senzibilizované monoklonálními protilátkami, které zajišťují specificitu a citlivost reakce. Studie provedená na 200 izolátech kvasinek, porovnála test ELITex Bicolor dubliniensis s metodami molekulární biologie a ID 32C systémem (BIOMERIEUX). Výsledky udávají 98 % senzitivitu a 100 % citivost.

Vysoká citivost testu dovoluje provedení reakce s 1 až 10 kmeny bez zónového fenoménu.

#### 14 - LIKVIDACE ODPADU

Odpad by měl být likvidován v souladu s hygienickými předpisy a aktuálními směrnice pro tento typ produktu a zem použití. Po vyřízení reagenicie TEST LATEX nebo v případě kontaminace pracovní plochy koloniemi, vyčistěte povrch pomocí dezinfekčního prostředku na bázi chloru a papírovou utěrkou.

#### 15 - LITERATURA

- ADOU-BRYN, K., DOUCHET, C., FERRER, A., GRIMAUD, L., ROBERT, R. AND RICHARD-LENOBLE, D., 2003. Morphological features of *Candida dubliniensis* on a modified Pal'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 Pal's agar. *J. Clin. Microbiol.*, 41: 4787-4789.

Differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans* on Staib agar and caffeic

- AL-MOSAID, A., SULLIVAN, D., SALKIN, I. F., SHANLEY, D., COLEMAN, D. C., 2001. acid-feric 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., QUINDÓS, G., PONTÓN, 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.
- 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 : 637-641.
- COLEMAN, D., SULLIVAN, D., HAYENS, 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., FROSCH, M., MUHLSCHEGEL, 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., BOUTERIGE, 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., MORSCHHÄUSER, J., 1999. Chlamydozspore 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*, 152:1.1507-
- 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., PONTÓN, J., 2006. Evaluation of Bichro-dubli distinguish *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 55 : 165-167.
- CHRYSSANTHOU, 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.

ELITech MICROBIO Parc d'Activités du Plateau 19 Allée d'Athènes 83870 SIGNES FRANCE  
ifO 4 94 88 55 00  
Fax : 04 94 88 55 22

