

# ELIchrom *glabrata*

Schnelltest zur Identifikation von *Candida glabrata*

40 Tests  
(Art. 44506)



8000050-DE-2012-05

Zur *in-vitro*-Diagnostik, für den professionellen Einsatz.  
Die Tests sind nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt.

## 1 - ZIEL

**ELIchrom *glabrata*** ist ein Schnelltest (20 Minuten) und Unit-Test zur schnellen Identifizierung von Kolonien von *Candida glabrata*.  
Ein Kit ermöglicht die Durchführung von 40 Tests.

## 2 - EINFÜHRUNG

hefen der Gattung *Candida* können haut-Candidiasis, Schleimhaut-Candidiasis, Candidämie oder invasive Candidiasis verursachen.

*Candida* sind meist kommensale Hefen der Verdauungs- und Urogenitalschleimhaut. Sie werden erst dann pathogen, wenn im Wirtsorganismus günstige Bedingungen herrschen. Zu den Faktoren, die eine Candidiasis-Infektion begünstigen, gehören intrinsische physiologische oder pathologische Faktoren (extreme Lebensalter, Schwangerschaft, Diabetes, Immunschwäche und bösartige Erkrankungen) und extrinsische Faktoren, die im Wesentlichen iatrogenen Natur sind. Die Prävalenz der Candidiasis ist in den letzten zwanzig Jahren durch das Auftreten von Krankheiten wie AIDS, dem weit verbreiteten Einsatz von Antibiotika und oralen Kontrazeptiva, der Entwicklung immunsuppressiver Therapien, parenteraler Ernährung, der Verbreitung aggressiver Untersuchungsmethoden und chirurgischer Eingriffe erheblich gestiegen. Zum Beispiel machen Candidämien etwa 10 % aller nosokomialen Infektionen aus, dieser Prozentsatz kann laut einigen Studien sogar 20 % erreichen. Zudem bleibt ihre Prognose sehr schlecht, die Mortalität bei Pilzpatienten schwankt zwischen 38 und 50 %.  
*C. albicans* ist die am häufigsten isolierte Art. Es stellt 60 bis 80 % der klinischen Isolate dar. Dennoch werden andere Arten wie *C. dubliniensis*, eine Art, die dem *C. albicans* sehr nahe ist, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis*, *C. lipolytica*, immer häufiger als Mykoseerreger angegeben.

*C. glabrata* stellt laut Studien 5 bis 25 % der hefeisolationen in der medizinischen Mykologie dar. In Bezug auf die Häufigkeit ist diese Hefe derzeit die zweite beim Menschen anzutreffende Art. Ihr pathogener Charakter ist heute nicht mehr umstritten, da sie für 10 bis 25 % der Kandidaturen verantwortlich ist. Darüber hinaus ist *C. glabrata* generell weniger empfindlich gegenüber Azolderivaten, und einige Isolate von Patienten, die mit Fluconazol oder Icteconazol behandelt wurden, scheinen gegen fast alle Azolderivate resistent zu sein.

Die Isolierung und schnelle Identifizierung von *C. glabrata* ist daher für die Einleitung einer geeigneten Therapie unerlässlich. Klassischerweise wird diese Identifizierung mit biochemischen Tests, Auxanogrammen von Kohlenstoff (Untersuchung der Assimilation von Oses als Kohlenstoff- und Energiequelle) und Zymogrammen (Untersuchung der Verwendung von Oses bei der Anaerobiose) durchgeführt, die eine relativ lange Reaktionszeit von 24 bis 48 h erfordern.

*C. glabrata* kann schneller mit Systemen identifiziert werden, die auf dem Nachweis von vorgeformten Enzymen basieren, die chromogene Substrate verwenden oder auf der Assimilation von Trehalose basieren. **ELIchrom *glabrata*** ist ein Schnelltest zur Identifikation von *C. glabrata*, basierend auf dem Nachweis dieses Enzyms.

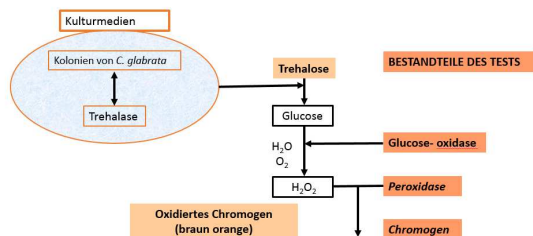
## 3 - GRUNDSATZ

Unter den Hefen von medizinischem Interesse kann *C. glabrata* unter bestimmten Bedingungen sehr schnell Trehalose zu Glukose hydrolysieren. Die Offenbarung dieser Glukoseproduktion erlaubt dann die Identifizierung der Hefe. Zusätzlich zum Trehalosestest müssen jedoch zwei Kontrollen durchgeführt werden:

- eine Maltosekontrolle, da einige Isolate von *C. tropicalis* auch Trehalose abbauen können, sie aber im Gegensatz zu *C. glabrata*, Maltose aufnehmen.
- eine Kontrolle in Abwesenheit von Ose (basale Mediumkontrolle des Reagenzes), da die Isoliermedien Glukose enthalten und eine schlechte Kolonierprobe, die Agar enthalten würde, zu einer falsch-positiven Reaktion führen könnte.

**ELIchrom *glabrata*** erlaubt die Durchführung eines dreistufigen Test zur Identifizierung von *C. glabrata*:

- herstellung einer hefesuspension in destilliertem Wasser.
- Inkubation der hefesuspension mit Trehalose oder Maltose (hefekontrolle) oder Basismedium (Isoliermediumkontrolle).
- Offenbarung von Glukose durch den Entwickler, der eine Mischung aus Glukose-Oxidase, Peroxidase und chromogenem Substrat ist.



## 4 - REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Beschreibung	Anzahl
REAG : gefriergetrocknetes Reagenzfläschchen (zu rekonstituieren mit 1,3 mL sterilisiertem Wasser)	3
TEST CARD : Karten von 12 Brunnen, also 4 Identifikationen die Brunnen T enthalten ein Basismedium und Trehalose die Brunnen M enthalten ein Basismedium und Maltose die Brunnen B enthalten ein Basismedium	10

## 5 - VORSICHTSMAßNAHMEN FÜR DEN GEBRAUCH

- Die **ELIchrom *glabrata*** ist für die *in vitro*-Diagnose nur durch autorisiertes Personal bestimmt. Die Tests sind nur für den einmaligen Gebrauch bestimmt.
- Stellen Sie sicher, dass die dehydrierten Medien nicht verändert werden (Vorhandensein eines blauen Flecks in allen Brunnen).
- Die Proben sind potentiell infektiös. Sie müssen mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen und unter Beachtung der im Verwendungsland geltenden Hygienevorschriften behandelt werden.
- Verwenden Sie keine Reagenzien über das Verfallsdatum hinaus.
- Verwenden Sie keine Reagenzien aus verschiedenen Chargen.
- Warten Sie, bis sich die Reagenzien bei Raumtemperatur ausgeglichen haben.

### - TESTKARTE: T: Giftig.

Enthält Chloramphenicol.

-R45: Krebszerzeugend.

-S45 : Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt hinzuziehen.

(falls möglich, zeigen Sie ihm das Etikett).

-S53 : Exposition vermeiden - vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.

### - REAG: T: Giftig.

Enthält Glucoseoxidase und 3,3-Dimethoxybenzidindihydrochlorid.

-R22: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken

-R42 : Kann Sensibilisierung durch Einatmen verursachen.

-R45: Krebszerzeugend.

-S22 : Staub nicht einatmen.

-S45 : Bei Unfall oder Unwohlsein sofort einen Arzt hinzuziehen.(falls möglich, zeigen Sie ihm das Etikett).

-S53 : Exposition vermeiden - vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.



T



T

## 6 - PROBENAHEME

**ELIchrom *glabrata*** kann auf isolierten Hefen nach der Kultur bei +37 °C oder +22 °C 24 bis 96 h lang auf Sabouraud-Medien und auf chromogenen Medien für *Candida* durchgeführt werden.

## 7 - KONSERVIERUNG UND HERSTELLUNG VON REAGENZIEN

Lagern Sie **TEST CARD** und Reagenz **REAG** (lyophilisiert oder rekonstituiert) bei 2-8 °C und vor Licht geschützt.

Nach der Rekonstitution ist das Reagenz **REAG** 2 Monate lang bei 2-8°C stabil. Die Haltbarkeit des rekonstituierten Reagenzes **REAG** kann durch Einfrieren (-20 °C) in Form von 75 µl Aliquot (in sorgfältig verschlossenen Mikrotuben) unmittelbar nach der Rekonstitution auf 6 Monate verlängert werden. Einmal aufgetautes Reagenz **REAG** kann nicht mehr eingefroren werden.

## 8 - BENÖTIGTES, ABER NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIAL

- Automatische Pipette(n) mit an die messende Menge angepasstem Pipettiervolumen
- hämolyse Röhrenchen - Steriles destilliertes Wasser
- Behälter für verunreinigte Abfälle - Pasteur-Pipette oder Öse

## 9 - VORGEHENSWEISE

Lassen Sie die Reagenzien vor Gebrauch bei Raumtemperatur ausgleichen.

### 1 Rekonstitution des REAG-Reagenzes:

- Das Reagenz **REAG** vorsichtig öffnen (Vakuumflasche).
- Geben Sie 1,3 mL steriles destilliertes Wasser in das Fläschchen und schütteln Sie es vorsichtig.

### 2 Durchführung des Tests:

- Nehmen Sie 1 oder mehr **TEST CARDS** abhängig von der Anzahl der zu untersuchenden Hefen (Für eine Hefe schneiden Sie eine Karte so aus, dass sie die 3 Vertiefungen **T**, **M** und **B**haben).
- Identifizieren Sie ein hämolyseröhrenchen und geben Sie 100 µl steriles destilliertes Wasser hinzu.
- Entnehmen Sie vorsichtig die zu identifizierenden hefekolonien und homogenisieren Sie sie in 100 µl destilliertem Wasser, um eine Suspensionsdicke zu erhalten, die der von Punkt 5 des Mc Farland-Bereichs entspricht (3 bis 4 Kolonien, wenn die Kultur auf Sabouraud-Medium durchgeführt wurde, und 3 bis 8 je nach Größe der Kolonien, wenn die Kultur auf einem chromogenen Medium durchgeführt wurde).
- Geben Sie 25 µl der vorbereiteten hefesuspension mit Hilfe einer Mikropipette auf jeden der blauen Punkte **T**, **M** und **B**.
- Lassen Sie 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren (eine Verlängerung der Inkubationszeit um 10 Minuten hat keinen Einfluss auf das Endergebnis).
- Geben Sie 25 µl Reagenz **REAG** mithilfe einer Mikropipette in jeden der Brunnen **T**, **M** und **B**.
- Lassen Sie 5 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.
- Führen Sie das Ablesen durch.

**WICHTIG** : Wenn das Ablesen verzögert werden soll, muss die Reaktion blockiert werden, indem in jeden Brunnen 25 µl H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3 M) hinzugefügt werden. Für eine positive Reaktion wird die Farbe braun/grau, dann fuchsia und im Falle einer negativen Reaktion wird eine leicht bläuliche Farbe beobachtet.

## 10 - ABLESEN

**Positive Reaktion:** Auftauchen einer mehr oder weniger dunklen Orangefärbung  
**Negative Reaktion:** Keine Verfärbung

## 11 - INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

ERGEBNISSE			SCHLUSSFOLGERUNG
BRUNNEN T (Trehalose)	BRUNNEN M (Maltose)	BRUNNEN B (Basismedium)	
Positiv	Negativ	Negativ	<i>C. glabrata</i> .
Negativ	Negativ	Negativ	Nicht- <i>C. glabrata</i> -hefe. Führen Sie die Identifizierung fort.
Positiv	Positiv	Negativ	Nicht- <i>C. glabrata</i> -hefe. Führen Sie die Identifizierung fort.
Negativ	Positiv	Negativ	Nicht- <i>C. glabrata</i> -hefe. Führen Sie die Identifizierung fort.
Positiv	Positiv	Positiv	Nicht interpretierbar. Wiederholen Sie die Tests durch vorsichtiges Entnehmen der hefekolonien ohne Agar zu entnehmen.

## 12 - FEHLERURSACHEN UND EINSCHRÄNKUNGEN DES TESTS

Entnehmen Sie Agar nicht gleichzeitig mit Kolonien, da dies zunächst interpretierbaren Ergebnissen führen kann.  
In allen Fällen ist es notwendig, alle klinischen, epidemiologischen und biologischen Daten zu integrieren, bevor die endgültige Diagnose gestellt wird.

## 13 - LEISTUNGEN

Die Ergebnisse der Auswertungen von **ELIchrom *glabrata*** zeigen je nach verwendetem Isolationsmedium eine **Empfindlichkeit von 93,8 bis 97,9 %** (97,9 % für *Candida* ID-Medien, *CandiSelect*, und Sabouraud und 93,8 % für das Medium *CHROMagar candida*) und eine **Spezifität von 97,6 bis 98,8 %** (98,8% für das Medium Sabouraud und *CHROMagar candida*, 98 % für das Medium *Candida* ID und 97,6 % für das Medium *CandiSelect*). (Raymond Robert - Labor für Parasitologie/Mykologie, Fakultät für Pharmazie, 49100 Angers und Anne-Marie Freydière - Labor für Mikrobiologie, Krankenhaus Debrousse, hospices Civils de Lyon, 69322 Lyon).

## 14 - ABFALLENTSORGUNG

Die Entsorgung von Abfällen muss gemäß den für diese Art von Reagenzien im Verwendungsland geltenden Hygienevorschriften erfolgen.  
Bei versehentlichem Verschütten des Reagenzes oder bei Verunreinigung der Umgebung durch Hefe mit Bleichmittel und saugfähigem Papier reinigen.

## 15 - LITERATURVERZEICHNIS

- 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.
- Bouchara J., P., Declercq 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
- Fenn J. P., Billedeux 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.
- 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.
- Freydière A. M., Guinet R., and Boiron P. 2001. Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypic methods. *Med. Mycol.* 39:9-33.
- Lopez J., Dalle F., Mantelin P., Mourop X., Nierlich A. C., Pacot A., Cuisenier B., Vagner O., and Bonnin A. 2001. Rapid identification of *Candida glabrata* based on trehalase and sucrose assimilation using Rosco diagnostic tablets. *J. Clin. Microbiol.* 39:1172-1174.
- 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
- Peltroche-Liacsahuanga H., Schnitzler N., Lütticken R., Haase G. 1999. Rapid identification of *Candida glabrata* by using a Dipstick to detect trehalase-generated glucose. *J Clin Microbiol.* 37:202-5.
- 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.
- 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.
- Senet J-M., Robert R. 1995. Physiopathology of candidosis. *J. Mycol. Med.* 5:145-166.
- 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.
- 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.
- Peman J., Aparisi N., Garcia-Esteban C., Gombardo M., 2004 Jun. Rapid identification of *Candida glabrata* using a new commercial kit *Rev Iberoam Micol.* 21(2): 82-4.
- 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.

Die Änderungen seit der letzten Revision sind grau hinterlegt.

## 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

