

# ELIchrom *glabrata*

Snelle test voor identificatie van *Candida glabrata*

40 testen  
(Ref. 44506)



8000050-DU-2012-05

Alleen voor diagnostisch gebruik *in vitro*, alleen voor professioneel gebruik.  
Tests voor eenmalig gebruik.

## 1 - DOEL

ELIchrom *glabrata* is een snelle en unitaire test (20 minuten) voor de snelle identificatie van kolonies van *Candida glabrata*.

Met de inhoud van één kit kunnen 40 testen worden uitgevoerd.

## 2 - INLEIDING

De gisten van het geslacht *Candida* kunnen huidcandidose, mucosale candidose, candidemia of invasieve candidose veroorzaken.

*Candida* zijn meestal commensale gisten van het digestieve en urogenitale slijmvlies. Ze worden pas pathogeen wanneer zich gunstige omstandigheden voordoen in het gastheerorganisme. Tot de factoren die candidose-infecties in de hand werken behoren intrinsieke fysiologische of pathologische factoren (extreme leeftijden, zwangerschap, diabetes, immuundeficiënties en kwaadaardige aandoeningen) en extrinsieke factoren die in wezen iatrogen van aard zijn. De prevalentie van candidose is de afgelopen twintig jaar aanzienlijk toegenomen als gevolg van het opduiken van ziekten zoals aids, het uitgebreide gebruik van antibiotica en orale anticonceptiemiddelen, de ontwikkeling van immunosuppressieve therapieën, parentale voeding, de proliferatie van agressieve onderzoeksmethoden en chirurgische ingrepen. Zo zijn candidemia's goed voor ongeveer 10% van alle nosocomiale infecties, dit percentage kan volgens sommige studies zelfs oplopen tot 20%. Bovendien blijft hun prognose zeer slecht, met sterfte bij schimmelpatiënten schommelend tussen de 38 en 50%.

De meest voorkomende geïsoleerde soort is *C. albicans*. Ze vertegenwoordigt 60 tot 80% van de klinische isolaten. Andere soorten zoals *C. dubliniensis*, een soort zeer gelijkaardig aan *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilose*, *C. lipolytica*, worden echter steeds vaker gesignaleerd als mycose-agentia.

*C. glabrata* vertegenwoordigt volgens studies 5 tot 25% van gistisolaties in medische mycologie. Qua frequentie is deze gist momenteel de tweede soort die bij de mens wordt aangetroffen. Het pathogene karakter ervan wordt vandaag niet meer betwist, aangezien het verantwoordelijk is voor 10 tot 25% van candidemie. Bovendien is *C. glabrata* over het algemeen minder gevoelig voor azolderivaten en sommige isolaten afkomstig van patiënten die met fluconazol of ketoconazol zijn behandeld, lijken resistent tegen bijna alle azolderivaten.

Het isoleren en snel identificeren van *C. glabrata* is dus essentieel voor de bepaling van een geschikte therapie. Traditiegetrouw wordt deze identificatie uitgevoerd met behulp van biochemische tests, auxanogram van koolstof (studie van de assimilatie van "oesees" als een bron van koolstof en energie) en zymogram (studie van het gebruik van "oesees" in anaërobie), deze laatste technieken vereisen een vrij lange reactietijd van 24 tot 48 uur.

*C. glabrata* kan sneller worden geïdentificeerd met systemen die gebaseerd zijn op de detectie van voorgevormde enzymen, die chromogene substraten gebruiken of die gebaseerd zijn op de assimilatie van trehalose. ELIchrom *glabrata* is een snelle identificatietest van *C. glabrata*, gebaseerd op de detectie van dit enzym.

## 3 - PRINCIPE

Onder gisten van medisch belang kan *C. glabrata* onder bepaalde omstandigheden zeer snel trehalose tot glucose hydrolyseren. De onthulling van deze glucoseproductie maakt dan de identificatie van de gist mogelijk. Naast de trehalosetest moeten er echter twee controles worden uitgevoerd:

- een maltosecontrole, omdat sommige isolaten van *C. tropicalis* ook trehalose kunnen afbreken, maar in tegenstelling tot *C. glabrata*, assimileren ze de maltose.
- een controle in afwezigheid van "oese" (controle van het basismedium van het reagens), omdat de isolatiemediamedia glucose bevatten, en een slechte monsterneming van kolonies, die agar zou bevatten, zou tot een vals-positieve reactie kunnen leiden.

ELIchrom *glabrata* maakt het mogelijk om in drie stappen een test uit te voeren om *C. glabrata* te identificeren:

1. Bereiding van een suspensie van gist in gedestilleerd water.
2. Incubatie van de gistsuspensie met trehalose of maltose (gistcontrole) of het basismedium (controle van isolatiemedium).
3. Openbaring van glucose door de indicator, een mengsel van glucose-oxidase, peroxidase en chromogeen substraat.

## 4 - REAGENTIA EN MATERIAAL

Beschrijving	Aantal
REAG: flacon van gelyofiliseerd reagens (moet worden gereconstitueerd met 1,3 mL steriel gedestilleerd water)	3
TEST CARD: kaarten van 12 putjes oftewel 4 identificaties de cupula's T bevatten een basismedium en een trehalose-medium de cupula's M bevatten een basismedium en een maltose-medium de cupula's B bevatten een basismedium	10

## 5 - VOORZORGEN BIJ GEBRUIK

- ELIchrom *glabrata* is uitsluitend bestemd voor een *in-vitro*-diagnose en moet door geautoriseerd personeel worden gehanteerd. De testen zijn voor eenmalig gebruik.
- Controleer of de gedehydrateerde media niet zijn gewijzigd (aanwezigheid van een blauwe vlek in alle cupula's).
- De monsternemingen zijn potentieel besmettelijk. Ze moeten worden gehanteerd met de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen en met inachtneming van de in het land van gebruik geldende hygiënevoorschriften.
- Gebruik reagentia niet langer dan de vervaldatum.
- Gebruik geen reagentia uit verschillende batches.
- Wacht tot de reagentia op kamertemperatuur komen.

### - TEST CARD: T: giftig.

Bevat chlooramfenicol.

•R45: kan kanker veroorzaken.

•S45: in geval van een ongeval of indien men zich onwel voelt: onmiddellijk een raadplegen.

(indien mogelijk, het etiket tonen).

•S53: blootstelling vermijden - vóór gebruik speciale aanwijzingen raadplegen.

### - REAG: T: giftig.

Bevat glucose-oxidase en 3,3-dimethoxybenzidine-dihydrochloride.

•R22: schadelijk bij opname door de mond.

•R42: kan overgevoeligheid veroorzaken bij inademing.

•R45: kan kanker veroorzaken.

•S22: stof niet inademen.

•S45: in geval van een ongeval of indien men zich onwel voelt: onmiddellijk een arts raadplegen.

(indien mogelijk, het etiket tonen).

•S53: blootstelling vermijden - vóór gebruik speciale aanwijzingen raadplegen.



T



T

## 11 - INTERPRETATIE VAN DE RESULTATEN

RESULTATEN			CONCLUSIE
CUPULA T (Trehalose)	CUPULA M (Maltose)	CUPULA B (Basismedium)	
Positief	Negatief	Negatief	<i>C. glabrata</i> .
Negatief	Negatief	Negatief	Gist niet <i>C. glabrata</i> . Ga door met de identificatie.
Positief	Positief	Negatief	Gist niet <i>C. glabrata</i> . Ga door met de identificatie.
Negatief	Positief	Negatief	Gist niet <i>C. glabrata</i> . Ga door met de identificatie.
Positief	Positief	Positief	Niet interpreteerbaar. Herhaal de testen door zorgvuldig de kolonies te verwijderen van gist zonder agar af te nemen.

## 12 - OORZAKEN VAN FOUTEN EN BEPERKINGEN VAN DE TEST

Niet gelijktijdig agar en de kolonies afnemen, omdat dat kan leiden tot niet-interpreteerbare resultaten.

In alle gevallen moeten alle klinische, epidemiologische en biologische gegevens worden geïntegreerd voordat de definitieve diagnose kan worden gesteld.

## 13 - PRESTATIES

De resultaten van de evaluaties van ELIchrom *glabrata* vertonen, afhankelijk van de gebruikte isolatiemediamedia, een gevoeligheid van 93,8 tot 97,9% (97,9% voor de media Candida ID, CandiSelect en Sabouraud en 93,8% voor het medium CHROMagar candida) en een specificiteit van 97,6 tot 98,8% (98,8% voor de media Sabouraud en CHROMagar candida, 98% voor het medium Candida ID en 97,6% voor het medium CandiSelect). (Raymond Robert - Laboratorium voor Parasitologie/Mycologie, Faculteit van Farmacie, 49100 Angers en Anne-Marie Freydière - Laboratorium voor Microbiologie, Debrousseziekenhuis, Hospices Civils de Lyon, 69322 Lyon)

## 14 - AFVALVERWIJDERING

Alval dient te worden afgevoerd in overeenstemming met de in het land van gebruik voor dit type product geldende hygiënevoorschriften en wetgeving.

In geval van accidenteel morsen van reagens of in geval van verontreiniging van de omgeving door de gisten: reinigen met bleekmiddel en absorberend papier.

## 15 - BIBLIOGRAFIE

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., P., 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., 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.
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. Freydiere A. M., Guinet R., and Boiron P. 2001. Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypic methods. *Med. Mycol.* 39:9-33.
6. Lopez J., Dalle F., Mantelin P., Mourox 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., Freydiere 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-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.
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. Freydiere 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. Freydiere 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., Aparis N., Garcia-Esteban C., Gobernado M., 2004 Jun. Rapid identification of *Candida glabrata* using a new commercial kit *Rev Iberoam Micol.* 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.

De wijzigingen ten opzichte van de vorige versie zijn grijs gemarkeerd.

## 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



## 6 - VERZAMELING VAN MONSTERS

ELIchrom *glabrata* kan worden uitgevoerd op geïsoleerde gisten na cultuur bij +37 °C of +22 °C gedurende 24 tot 96 uur op Sabouraud-media en op chromogene media voor *Candida*.

## 7 - OPSLAG EN BEREIDING VAN DE REAGENTIA

Bewaar de TEST CARD en het reagens REAG (gelyofiliseerd of gereconstitueerd) bij 2-8 °C en uit de buurt van licht.

Na reconstitutie is het reagens REAG 2 maanden stabiel bij 2-8 °C.

De duur van de conservering van het gereconstitueerde reagens REAG kan worden verlengd tot 6 maanden door het onmiddellijk na de reconstitutie in te vriezen (-20 °C) in de vorm van aliquots van 75 µL (in zorgvuldig afgedekte microsuisjes). Het ontdooide reagens REAG mag niet opnieuw worden ingevroren.

## 8 - BENODIGD, MAAR NIET MEEGELEVERD MATERIAAL

- Automatische pipet(ten) met een aan de te meten hoeveelheid aangepast pipetteringsvolume
- Hemolysebuisjes
- Steriel gedestilleerd water
- Container voor verontreinigd afvalmateriaal
- Pasteurpipet of oese

## 9 - WERKWIJZE

Laat reagentia vóór gebruik op kamertemperatuur komen.

### 1 Reconstitutie van het reagens REAG:

- Open het reagens REAG voorzichtig (vacuüm flacon).
- Voeg 1,3 ml steriel gedestilleerd water toe aan de flacon en schud voorzichtig.

### 2 Uitvoering van de test:

- Haal 1 of meer TEST CARD naar buiten, afhankelijk van het aantal te bestuderen gisten (voor één gist snijdt u een kaart zo uit zodat u de 3 cupula's T, M en B hebt).
- Identificeer een hemolysebuissje en voeg 100 µL steriel gedestilleerd water toe.
- Neem zorgvuldig monsters af van de kolonies van de te identificeren gist en homogeniseer deze in 100 µL gedestilleerd water zodat de dichtheid van de suspensie overeenkomt met die van punt 5 van het Mc Farland-bereik (3 tot 4 kolonies indien de kweek werd uitgevoerd op een sabouraud-medium en 3 tot 8 afhankelijk van de grootte van de kolonies indien de kweek werd uitgevoerd op een chromogeen medium).
- Plaats met behulp van een micropipet 25 µL van de bereide gistsuspensie op elk van de blauwe vlekken T, M en B.
- Laat 10 minuten incuberen op kamertemperatuur (een verlenging van de incubatietijd met 10 minuten heeft geen invloed op het eindresultaat).
- Voeg met behulp van een micropipet 25 µL reagens REAG toe aan elk van de cupula's T, M en B.
- Laat 5 tot 10 minuten incuberen op kamertemperatuur.
- Voer de aflezing uit.

**BELANGRIJK:** indien de aflezing moet worden uitgesteld, kan de reactie geblokkeerd worden door in elke cupula 25 µL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (3 M) toe te voegen. Bij een positieve reactie wordt de kleur bruin/grijs en vervolgens fuchsia en bij een negatieve reactie wordt er een lichtblauwe kleur waargenomen.

## 10 - AFLEZING

**Positieve reactie:** verschijning van een minder of meer donkere oranje kleuring

**Negatieve reactie:** geen kleuring

