ELIchrom *glabrata*

Быстрый тест для идентификации *Candida glabrata*

40 Тесты

(Арт. 44506)

8000050-RU-2012-05

Для диагностики *in vitro*, для профессионального использования.
Тесты предназначены исключительно для одноразового использования.

1 - НАЗНАЧЕНИЕ

ELIchrom *glabrata* представляет собой быстрый (20 минут) модульный тест на идентификацию колоний *Candida glabrata*.
Один комплект позволяет провести 40 тестов.

2 - ВВОДНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Грибы рода *Candida* могут вызывать кандидоз кожи, кандидоз слизистых оболочек, кандидемию или инвазивный кандидоз.
Candida— это в основном комменсальные грибковые микроорганизмы, содержащиеся в слизистых оболочках
пищеварительной и мочеполовой систем. Они становятся патогенными только при благоприятных условиях в организме хозяина. Факторы, благоприятствующие кандидозной инфекции, включают в себя внутренние физиологические или патологические условия (преклонный возраст, беременность, диабет, иммунодефицит и злокачественные заболевания) и внешние условия, которые по своей природе являются ятрогенными. За последние двадцать лет уровень заболеваемости кандидозом значительно вырос, что стало следствием появления таких заболеваний, как СПИД, распространения антибиотиков и оральных контрацептивов, развития иммуносупрессивных методов лечения, парентерального питания, распространения агрессивных методов обследований и хирургических вмешательств. Например, кандидемия составляет около 10 % всех нозокомиальных инфекций, а согласно некоторым исследованиям этот процент может достигать даже 20 %. Прогноз у данного заболевания по-прежнему довольно негативный: уровень смертности среди носителей грибковых инфекций колеблется от 38 до 50 %.
C. albicans является наиболее часто изолированным видом. Он составляет от 60 до 80 % клинических изолятов. Однако и другие виды, такие как*C. dubliniensis*, родственные *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. lipolytica*, все чаще выявляются в качестве грибковых агентов.

Согласно исследованиям, на *C. glabrata* приходится от 5 до 25 % изоляций дрожжевых грибов в медицинской микологии. С точки зрения встречаемости эти дрожжи в настоящее время являются вторым по частоте видом, обнаруживаемым у людей. Их патогенный характер сегодня уже не вызывает споров, поскольку они являются причиной 10–25 % случаев кандидоза. Кроме того, *C. glabrata* обычно менее чувствительны к производным азола, а некоторые изоляты от пациентов, получавших флуконазол или кетоконазол, оказались устойчивыми почти ко всем производным азола.
В этой связи изоляция и быстрая идентификация *C. glabrata* важны для проведения соответствующей терапии. Традиционно такая идентификация выполняется с использованием биохимических тестов, углеродной анограммы (исследование ассимиляции моносахаридов как источника углерода и энергии) и зимограммы (исследование использования моносахаридов при анаэробиозе), которые требуют длительного времени отклика — от 24 до 48 часов.
C. glabrata можно быстрее идентифицировать с помощью систем, основанных на доказательствах на основе предварительно сформированных ферментов с использованием хромогенных субстратов или на основе ассимиляции трегалозы. **ELIxpom *glabrata*** — это быстрый тест для идентификации *C. glabrata*на основе обнаружения этого фермента.

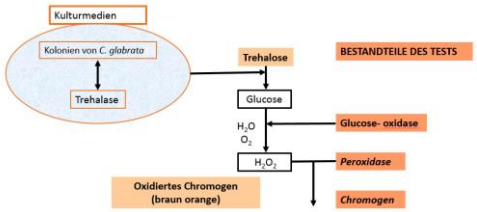
3 - ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Из всех грибов, представляющих медицинский интерес, *C. glabrata* при определенных условиях очень быстро гидролизуют трегалозу до глюкозы. Выявление такого производства глюкозы позволяет идентифицировать наличие грибов. Однако в дополнение к тесту на трегалозу необходимо провести две проверки:

- контроль мальтозы, поскольку некоторые изоляты *C. tropicalis* также могут расщеплять трегалозу, но в отличие от нее *C. glabrata,* поглощают мальтозу.
- контроль на отсутствие моносахаридов (основной контроль среды для реагента), поскольку среда для выделения содержит глюкозу, и плохой образец колонии, который может содержать агар, может привести к ложноположительной реакции.

ELIxpom *glabrata* позволяет провести трехэтапный тест для определения *C. glabrata* :

1. приготовление дрожжевой суспензии в дистиллированной воде.
2. Инкубация дрожжевой суспензии с трегалозой или мальтозой (контроль грибов) или базовой средой (контрольная среда для выделения).
3. Выявление глюкозы проявителем, который представляет собой смесь глюкозооксидазы, пероксидазы и хромогенного субстрата.
4.



4 - РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

Описание	Кол-во
REAG: сублимированный флакон с реагентом *(для восстановления 1,3 мл стерильной дистиллированной воды)*	**3**
TEST-CARD: карты с 12 полосками, на 4 идентификации полоски **T** содержат базовую среду и трегалозу полоски **M** содержат базовую среду и мальтозу полоски **B** содержат базовую среду	**10**

5 - МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ

- Тест **ELIxpom *glabrata*** предназначен только для проведения диагностики in vitro квалифицированным персоналом. Тесты предназначены исключительно для одноразового использования.
- Убедитесь, что обезвоженная среда не изменена (наличие синего пятна на всех полосках).
- Образцы потенциально заразны. При обращении с ними необходимо принимать стандартные меры предосторожности в соответствии с правилами и положениями гигиены, действующими в стране использования.
- Не используйте реагенты с истекшим сроком годности.
- Не используйте реагенты из разных партий.
- Дождитесь перехода агента в сбалансированное состояние при комнатной темп

- ТЕСТ-КАРТА: **T: ядовитый**.

Содержит хлорамфеникол.
-R45: канцерогенный.
-S45: при несчастном случае или плохом самочувствии немедленно вызовите врач (по возможности покажите ему этикетку).
-S53: избегать воздействия — перед использованием получить специальные инструкции.

T

- REAG: **T: ядовитый**.

Содержит глюкозооксидазу и дигидрохлорид 3,3-диметоксибензидина.
-R22: опасен при проглатывании
-R42: может вызвать сенсибилизацию при вдыхании.
-R45: канцерогенный.
-S22: не вдыхать в мелкодисперсном виде.
-S45: при несчастном случае или плохом самочувствии немедленно вызовите врача (по возможности покажите ему этикетку).
-S53: избегать воздействия — перед использованием получить специальные инструкции.

T

6 - ЗАБОР ОБРАЗЦОВ

Тест **ELIxpom *glabrata*** можно проводить на изолированных грибах, в зависимости от культуры, при +37 ° C или +22 ° C от 24 до 96 часов в среде Сабуро и хромогенных средах для*Candida*.

7 - КОНСЕРВАЦИЯ И ПРОИЗВОДСТВО РЕАГЕНТОВ

Храните **ТЕСТ-КАРТУ** и реагент **REAG** (лиофилизированный или восстановленный) при 2–8 ° C в защищенном от света месте.
После восстановления реагент **REAG** стабилен 2 месяца при 2–8 ° C.
Срок годности восстановленного реагента **REAG** может быть увеличен до 6 месяцев сразу после восстановления путем замораживания (-20 ° C) в виде аликвот по 75 мкл (в плотно закрытых микропробирках). Размороженный реагент **REAG** не подлежит повторной заморозке.

8 - НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВХОДЯЩИЕ В КОМПЛЕКТ

- Автоматическая пипетка(-и) с объемом дозирования, адаптированным к измеряемому количеству
-трубки для гемолиза-Стерильная дистиллированная вода
- Контейнеры для загрязненных отходов - Пипетка Пастера или ушко

9 - ПРОЦЕДУРА

Перед использованием дайте реагентам восстановиться при комнатной температуре.

1 Восстановление реагента REAG:

- Осторожно откройте реагент **REAG** (вакуумный флакон).
- Добавьте во флакон 1,3 мл стерильной дистиллированной воды и аккуратно встряхните.

2 Выполнение теста

- Возьмите 1 или несколько **ТЕСТ-КАРТ** в зависимости от количества исследуемых грибов (для одной культуры вырежьте карту так, чтобы она содержала 3 лунки **T**, **M** и **B**).
- Найдите пробирку для гемолиза и добавьте 100 мкл стерильной дистиллированной воды.
- Осторожно извлеките колонии грибов, которые необходимо идентифицировать, и гомогенизируйте их в 100 мкл дистиллированной воды, чтобы получить плотность суспензии, эквивалентную точке 5 области Мак-Фарланда (от 3 до 4 колоний, если культивирование проводилось на среде Сабуро, и от 3 до 8 в зависимости от размера колоний, если культивирование проводилось на хромогенной среде).
- С помощью микропипетки добавьте по 25 мкл приготовленной дрожжевой суспензии на каждую из синих точек **T**, **M** и **B**.
- Оставьте для инкубации на 10 минут при комнатной температуре (увеличение времени инкубации на 10 минут не повлияет на окончательный результат).
- При помощи микропипетки добавьте 25 мкл реагента **REAG** в каждую лунку **T**, **M** и**B**.
- Оставьте для инкубации на 5–10 минут при комнатной температуре.
- Выполните считывание.

ВАЖНО : если считывание должно быть проведено в более поздний срок, реакцию необходимо заблокировать, добавив на каждую полоску 25 мкм h_2SO_4 (3 M). При положительной реакции цвет становится коричнево-серым, а затем приобретает цвет фуксии; при отрицательной реакции наблюдается слегка голубоватый оттенок.

10 - СЧИТЫВАНИЕ

Положительная реакция: появление более или менее темно-оранжевого цвета
Отрицательная реакция: изменения цвета не происходит

11 - ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

РЕЗУЛЬТАТЫ			ЗАКЛЮЧЕНИЕ
ПОЛОСКА Т (трегалоза)	**ПОЛОСКА М** (мальтоза)	**ПОЛОСКА В** (базовая среда)	
Положительный	Отрицательный	Отрицательный	*C. glabrata.*
Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный	Не является грибом *C. glabrata.* Продолжайте идентификацию.
Положительный	Положительный	Отрицательный	Не является грибом *C. glabrata.* Продолжайте идентификацию.
Отрицательный	Положительный	Отрицательный	Не является грибом *C. glabrata.* Продолжайте идентификацию.
Положительный	Положительный	Положительный	Не интерпретируется. Повторите тесты путем тщательного удаления дрожжевых колоний без извлечения агара.

12 - ПРИЧИНЫ ОШИБОК И ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

Не собирайте агар одновременно с колониями, так как это можетпривести к неинтерпретируемым результатам.
Во всех случаях до постановки окончательного диагноза необходимо объединить все клинические, эпидемиологические и биологические данные.

13 - ПОКАЗАТЕЛИ

Результаты оценки **ELIchrom *glabrata*** в зависимости от используемого изоляционного материала показывают **чувствительность от 93,8 до 97,9 %** (97,9 % для среды Candida ID, CandiSelect и Sabouraud и 93,8 % для среды ChROMagar Candida) и **специфичность от 97,6 до 98,8 %** (98,8 % для среды Sabouraud и ChROMagar Candida, 98 % для среды Candida ID и 97,6 % для среды CandiSelect). (Раймон Роберт — лаборатория паразитологии / микологии, фармацевтический факультет, 49100 Анжер, и Анн-Мари Фрейдьер — лаборатория микробиологии, больница Дебрусс, хосписы Civils de Lyon, 69322 Лион).

14 - УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Утилизация отходов должна производиться в соответствии с гигиеническими нормами, применимыми к этому типу реагента в стране использования.
В случае случайной утечки реагента или заражения окружающей среды произведите очистку с помощью отбеливателя и впитывающей бумаги.

15 - СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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., Billetdeaux 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: 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., 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-Llacsahuanga H., Schnitzsler 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., Diekama D. J., Jones R. N., sader H., S., Fluit A., C., Hollis R., J., Messer S., A. 2001. International surveillance of bloods tream 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., Aparisi 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.

Изменения с момента последней редакции выделены серым цветом.

ELITech MICROBIO
Parc d'activités du Plateau
allée d'Athènes
83870 SIGNES
FRANCE (ФРАНЦИЯ)
☎: 33 (0)4 94 88 55 00
Факс: 33 (0) 4 94 32 82 61
http://www.elitechgroup.com