

ELIchrom *glabrata*

Snabbt identifieringstest av *Candida glabrata*

40 tester
(Ref. 44506)



8000050-SE-2012-05

Endast för in vitro diagnostisk användning, endast för professionell användning.
Test för engångsbruk.

1 - MÅL

ELIchrom *glabrata* är ett snabbt (20 minuter) och enhetligt test för snabb identifiering av kolonier av *Candida glabrata*.

En låda gör det möjligt att utföra 40 tester.

2 - INLEDNING

Jäst av *Candida*-typ kan orsaka candidainfektion i huden och slemhinnan, candidemi eller invasiv candidiasis.

Candida är vanligen commensal jäst i matsmältningssystemet och urogenitala slemhinnor. De blir patogena endast när gynnsamma förhållanden är närvarande i värdorganismen. De faktorer som främjar candidal infektion är fysiska eller patologiska faktorer (extrem livslängd, graviditet, diabetes, immunbrist och maligna sjukdomar) och yttre faktorer som i huvudsak är iatrogena. Förekomsten av candidiasis har ökat avsevärt under de senaste tjugo åren, som ett resultat av uppkomsten av patologier som aids, spridningen av antibiotika och orala preventivmedel, utvecklingen av immunsuppressiva terapier, parenteral näring, spridningen av aggressiva undersökningsmetoder och kirurgiska ingrepp. Till exempel står candidemier för cirka 10 % av alla nosokomiella infektioner, vilket även kan uppnå 20 % enligt vissa studier. Dessutom är deras prognos fortfarande mycket dystyr, dödligheten svänger hos de fungemiska patienterna mellan 38 och 50 %.

C. albicans är oftast den mest isolerade typen. Den står för 60 till 80 % av de kliniska isolaten. Men andra arter som *C. dubliniensis*, en art mycket nära *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilos*, *C. lipolytica*, blir rapporteras oftare som mykologiska medel.

C. glabrata representerar enligt studierna 5 till 25 % av jästisolater i medicinsk mykologi. I fråga om frekvens är denna jäst för närvarande den andra arten som uppträder hos människor. Dess patogena natur är inte längre ifrågasatt idag eftersom den är ansvarig för 10-25 % av candidaemierna. För övrigt *C. glabrata* är i allmänhet mindre känslig för azolderiv, och vissa isolat från patienter som behandlas med flukonazol eller ketokonazol verkar även vara resistenta mot nästan alla azolderivat.

Isolering och snabb identifiering av *C. glabrata* är därför avgörande för initiering av lämplig terapi. Klassiskt utförs denna identifiering med hjälp av biokemiska tester, kolananogram (studie av assimilering av monosackarid som källa till kol och energi) och zymogram (studie av användningen av monosackarid i anaerobios) som kräver en lång svarstid, 24 till 48 timmar.

C. glabrata kan identifieras snabbare med system baserat på detektering av förformade enzymer, vilka använder kromogena substrat eller baserat på assimilering av trehalos. ELIchrom *glabrata* är ett snabbt test för identifiering av *C. glabrata*, baserat på synligheten av detta enzym.

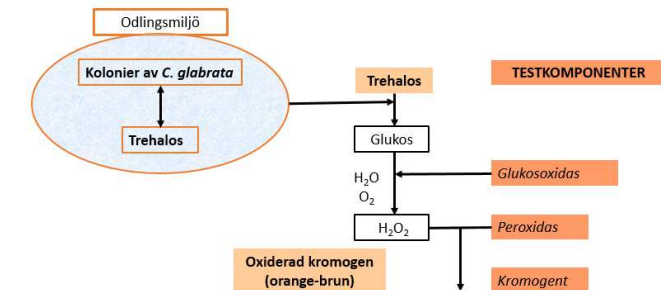
3 - PRINCIP

Bland jästtyperna av medicinskt intresse, *C. glabrata* kan, under vissa förhållanden, hydrolysera trehalos mycket snabbt till glukos. Uppenbarelse av denna glukosproduktion gör det då möjligt att identifiera jästen. Förutom trehalosprovet måste två kontroller utföras:

- en maltoskontroll eftersom vissa isolat av *C. tropicalis* också kan bryta ned trehalos men till skillnad från *C. glabrata*, assimilerar de maltos.
- en kontroll i frånvaro av monosackarid (kontrollmedium för reagenset) eftersom isoleringsmiljön innehåller glukos och en dålig samling av kolonier, som innehåller agar, som kan leda till en falsk positiv reaktion.

ELIchrom *glabrata* möjliggör realiseringen av ett trestegstest för identifiering av *C. glabrata*:

- Framställning av en suspension av jäst i destillerat vatten.
- Inkubation av jästsuspensionen med trehalos eller maltos (kontrolljäst) eller grundmiljö (kontrollisoleringsmiljö).
- Glukosfrisättning genom framkallning som är en blandning av glukosoxididas, peroxididas och kromogent substrat.



4 - REAGENSER OCH MATERIAL

Beskrivning	Kvantitet
REAG: frystorkad reagensflaska (att rekonstruera med 1,3 mL steril, destillerat vatten)	3
TEST CARD: Kort med 12 svepeskålar eller 4 identifikationer svepeskålarna T innehåller en grundmiljö och trehalos svepeskålarna M innehåller en grundmiljö och maltos svepeskålarna B innehåller en grundmiljö	10

5 - FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

- ELIchrom *glabrata* är endast avsedda för diagnostiska ändamål *in vitro* och måste hanteras av auktoriserade personer. Testerna är endast avsedda för engångsbruk.
- Kontrollera att dehydratiserade miljöerna inte förändras (förekomst av en blå fläck i alla svepeskålar).
- Provera är potentiellt infektiös. De måste hanteras med de vanliga försiktighetsåtgärderna i enlighet med hygienreglerna och gällande bestämmelser i användarlandet.
- Använd inte reagens efter utgångsdatumet.
- Använd inte reagens från olika satsar.
- Vänta tills reagensen balanseras i rumstemperatur.

T: Giftigt.

- TEST CARD: T: Giftigt.

- Innehåller kloramfenikol.
- R45: Kan orsaka cancer.
- S45: Vid olyckshändelse eller om du känner dig sjuk, kontakta genast läkare (visa läkaren etiketten om det går)
- S53: Undvik exponering - skaffa särskilda instruktioner före användning.

- REAG: T: Giftigt.

- Innehåller glukosoxididas och 3,3-dimetoxibensidin-dihydroklorid.
- R22: Farligt vid förtäring.
- R42: Kan ge allergi vid inandning.
- R45: Kan orsaka cancer.
- S22: Undvik inandning av damm.
- S45: Vid olyckshändelse eller om du känner dig sjuk, kontakta genast läkare (visa läkaren etiketten om det går)
- S53: Undvik exponering - skaffa särskilda instruktioner före användning.



T



T

6 - SAMLING AV PROVER

ELIchrom *glabrata* kan utföras på isolerade jästtyper efter odling i +37 °C eller +22 °C i 24 till 96 timmar på Sabouraud-miljöer och kromogena miljöer för *Candida*.

7 - KONSERVERING OCH BEREDNING AV REAGENSER

Behåll TEST CARD såväl som reagenset CEAG (lyofiliserad eller rekonstruerad) i 2-8 °C och skyddad mot ljus.

Efter rekonstrueringen är reagenset REAG stabilt i 2 månader i 2-8 °C. Hållbarhetstiden för den rekonstruerade REAG reagensen kan förlängas upp till 6 månader genom infrysning (-20 °C) i form av 75 µL portioner (i mikrorör som tillsluts noggrant), omedelbart efter beredning. Upptinade REAG reagens kan inte frysas in igen.

8- NÖDVÄNDIGT MATERIAL SOM INTE TILLHANDAHÅLLS

- Automatiska pipett(er) med volym anpassad efter den mängd som ska mätas
- Themolysrör - Sterilt, destillerat vatten
- Behållare för förorenat avfall - Pasteur-pipette eller öse

9 - FÖRFARANDE

Balansera reagenserna i rumstemperatur före användning.

- REAG-reagensrekonstruktion:
 - Öppna reagenset REAG försiktigt (vakuumflaska).
 - Tillsätt 1,3 mL steril, destillerat vatten i flaskan och skaka försiktigt.

2 Genomförande av testet:

- Avsluta 1 eller flera TEST CARD beroende på antalet jästtyper som ska studeras (För en jäst, skär ett kort för att få 3 svepeskålar T, M och B).
- Identifiera ett hemolysrör och tillsätt 100 µL steril, destillerat vatten.
- Ta försiktigt bort kolstensemas kolonier som ska identifieras och homogenisera dem i 100 µL destillerat vatten för att få en suspension av densitet som motsvarar punkten 5 i Mc Farlands intervall (3 till 4 kolonier om kulturen utfördes på Sabouraud-miljö och 3-8 beroende på koloniernas storlek om kulturen utfördes på kromogen miljö).
- Ta bort, med användning av en mikropipett, 25 µL av jästsuspensionen framställd på var och en av de blå fläckarna T, M och B.
- Inkubera i 10 minuter i rumstemperatur (en förlängning av inkubationstiden på 10 minuter har ingen inverkan på slutresultatet).
- Tillsätt 25 µL REAG reagens med en mikropipett i varje svepeskål T, M och B.
- Inkubera i 5 till 10 minuter i rumstemperatur.
- Utför avläsningen.

VIKTIGT : Om avläsningen ska skjutas upp blockeras reaktionen genom att lägga till 25 µL i vardera svepeskål H₂SO₄ (3 M). För en positiv reaktion blir färgen då brun/grå och därefter fuchsia och i fallt med en negativ reaktion observeras en något blåaktig färgning.

10 - AVLÄSNING

Positiv reaktion: Förekomst av en mer eller mindre orange färg
Negativ reaktion: Ingen färg

11 - TOLKNING AV RESULTATEN

SVEPESKÅL T (Trehalos)	RESULTAT		SLUTSATS
	SVEPESKÅL M (Maltos)	SVEPESKÅL B (Grundmiljö)	
Positiv	Negativ	Negativ	<i>C. glabrata</i> .
Negativ	Negativ	Negativ	Jäst inte <i>C. glabrata</i> . Fortsätt identifieringen.
Positiv	Positiv	Negativ	Jäst inte <i>C. glabrata</i> . Fortsätt identifieringen.
Negativ	Positiv	Negativ	Jäst inte <i>C. glabrata</i> . Fortsätt identifieringen.
Positiv	Positiv	Positiv	Inte tolkbar. Gör om testen genom att försiktigt ta prover på kolonierna jäst utan att avlägsna agar.

12 - FELORSAK OCH TESTGRÄNSER

Ta inte prov på agar samtidigt som kolonierna eftersom det kan leda till resultat inte tolkbar.

I samtliga fall är det nödvändigt att integrera alla kliniska, epidemiologiska och biologiska data innan den slutliga diagnosen upprättas.

13 - RESULTAT

Resultaten av utvärderingarna av ELIchrom *glabrata* visar, enligt den använda isoleringsmiljön, en känslighet på 93,8 till 97,9 % (97,9 % för *Candida* ID-miljö, CandiSelect och Sabouraud-miljö och 93,8 % för CHROMagar *Candida*-miljö) och en specifik karaktär på 97,6 till 98,8 % (98,8 % för Sabouraud-miljöerna och CHROMagar *Candida*-miljö, 98 % för *Candida* ID-miljö och 97,6 % för CandiSelect-miljö). (Raymond Robert - Laboratoriet för parasitologi/mykologi, farmaceutiska fakulteten, 49100 Angers och Anne-Marie Freydière - Laboratoriet för mikrobiologi, Debrousse sjukhus, Hospices Civils de Lyon, 69322 Lyon).

14 - AVFALLSHANTERING

Avfall ska kasseras i enlighet med gällande hygienregler och föreskrifter för denna typ av produkt i användarlandet.

Vid oavsiktlig frisättning av reagens eller miljöförurening genom kolonier, rengör med blekmedel och pappershanddukar.

15 - FÖRTECKNING

- Abi-said D., Anaïsse 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., 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
- Fenn J. P., Billeldeux 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: phenotypical methods. *Med. Mycol.* 39:9-33.
- Lopez J., Dalle F., Mantelin P., Mouiroux 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.
- 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-Llacsahuanga 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 lberoam 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.

Ändringar från den tidigare versionen är markerade i grått.

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

