

CANDIFAST®

Ταυτοποίηση ζυμομυκήτων και έλεγχος ανθεκτικότητας σε αντιμυκητιασικά
8 δοκιμασίες (Αρ. Κατ. 44008)
30 δοκιμασίες (Αρ. Κατ. 44030)

CANDIFAST® ES TWIN

Έλεγχος ανθεκτικότητας ζυμομυκήτων σε αντιμυκητιασικά
30 δοκιμασίες (Αρ. Κατ. 44130)

EL-2009-03_CPB 0038



1. Ενδεικνυόμενη Χρήση

Η συσκευή CANDIFAST επιτρέπει την ταυτοποίηση των κυριότερων ανθρώπινων παθογόνων ζυμομυκήτων καθώς επίσης και τη δοκιμασία αντοχής τους σε διάφορους αντιμυκητιασικούς παράγοντες. Η συσκευή CANDIFAST ES TWIN ενδείκνυται για την δοκιμασία αντοχής των ζυμομυκήτων σε διάφορους αντιμυκητιασικούς παράγοντες.

2. Εισαγωγή

Μυκητιάσεις και ιδιαιτέρως αυτές που προκαλούνται από ζυμομύκητες έχουν σημαντικά αυξηθεί τα τελευταία δέκα χρόνια (5). Οι ζυμομύκητες είναι ευκαιρικοί παράγοντες. Οι περισσότεροι από αυτούς είναι σαπροφυτικοί, αλλά μπορούν να γίνουν παθολογικοί όταν οι συνθήκες στον ξενιστή γίνονται ευνοϊκές.

Αυτές οι συνθήκες κυρίως είναι φυσιολογικοί παράγοντες (νεογνά, ηλικιωμένους, εγκύους), τοπικοί παράγοντες (συγκάσματα, αδυναμία), παθολογικοί παράγοντες (καρκίνος, ανοσολογική ανεπάρκεια, μεταβολικές διαταραχές), παράγοντες σχετικοί με θεραπεία (αντιβιοτικά, αντισυλληπτικά, ανοσοκατασταλτικοί παράγοντες, ιόντα ραδιενέργειας, χειρουργεία).

Οι κλινικές ιδιαιτερότητες που δημιουργούνται από αυτούς τους ζυμομύκητες ποικίλουν: δερματικές παθήσεις, (παράτριμμα, όνυχος ...), βλεννογονοδερματικές διαταραχές (στοματική καντινίαση, οισοφαγίτιδα, κωλίτιδα, κολπίτιδα ...) σπλαγχνικές και σημψαιμικές καταστάσεις. Η αύξηση του αριθμού ωφέλιμων αντιμυκητιασικών παραγόντων και η εμφάνιση ανθεκτικών μυκήτων στην θεραπεία μυκητιάσεων δικαιολογεί τη δοκιμασία στην απάντηση των ζυμομυκήτων στην παρουσία των αντιμυκητιασικών παραγόντων (1,2).

3. Αρχή της Μεθόδου

Η ταυτοποίηση των ζυμομυκήτων βασίζεται:

- Στην ευαισθησία στην ακτιδιόνη των στελεχών που εξετάζονται η οποία δεικνύται από αλλαγή χρώματος του δείκτη σε κίτρινο, πορτοκαλοκίτρινο ή φούξια

- Στη ζύμωση επτά ζαχάρων η οποία μας δίνει αλλαγή χρώματος του δείκτη σε κίτρινο ή πορτοκαλοκίτρινο εξαιτίας της οξίνισης του θρεπτικού υλικού.

- Στην εκδήλωση της δράσης της ουρεάσης, η οποία αλκαλοποιεί το θρεπτικό υλικό, με αποτέλεσμα η αλλαγή χρώματος του δείκτη σε φούξια.

Ο προσδιορισμός της ανθεκτικότητας των ζυμομυκήτων σε αντιμυκητιασικούς παράγοντες, βασίζεται στην ανάπτυξη ή στην απουσία της ανάπτυξης αυτών των ζυμομυκήτων στην παρουσία ποικίλων αντιμυκητιασικών παραγόντων. Η ανάπτυξη δεικνύεται με την αλλαγή χρώματος του θρεπτικού υλικού:

- Η ζύμωση της γλυκόζης από τους ζυμομύκητες οδηγεί στην οξείδωση του κόκκινου της φαινόλης που περιέχει το θρεπτικό υλικό, αλλάζοντας το σε κίτρινο ή σε πορτοκαλοκίτρινο χρώμα.

- Η υδρόλυση της ουρίας από τους ουρεάση-θετικούς ζυμομύκητες, απελευθερώνει αμμωνία η οποία αλκαλοποιεί το κόκκινο της φαινόλης που περιέχει το θρεπτικό υλικό, αλλάζοντας το σε φούξια-ροζ χρώμα.

4. Αντιδραστήρια

Συσκευή :

	Ποσότητα #44008	#44030	#44130
Αντιδραστήρια			
CANDIFAST tray	8	30	-
CANDIFAST Twin trays	-	-	15
R1: Φιαλίδιο με αντιδραστήριο 1	10	35	35
R2: Φιαλίδιο με αντιδραστήριο 2	8	30	30
TC: Φιαλίδιο με μάρτυρα θολερότητας	1	1	1

Περιγραφή :

Πλαστικό μέσο (tray) CANDIFAST : Κάθε πλαστικό μέσο φέρει 2 σειρές 8 βυθισμάτων.

Κάθε πλαστικό μέσο επιτρέπει την δοκιμασία ενός μόνο δείγματος (ταυτοποίηση + δοκιμασία αντοχής)

- Σειρά για ταυτοποίηση

Το βύθισμα (well) 1 περιέχει ερυθρό της φαινόλης, ακτιδιόνη (ACT) και γλυκόζη.

Τα βυθίσματα 2 έως 8 περιέχουν ερυθρό της φαινόλης και ένα διαφορετικό ζάχαρο όπως ακολουθεί :

Βύθισμα 2 (GLU) : γλυκόζη

Βύθισμα 3 (GAL) : γαλακτόζη

Βύθισμα 4 (TRE) : τρεχαλόζη

Βύθισμα 5 (MAL) : μαλτόζη

Βύθισμα 6 (CEL) : σελομπίοζη

Βύθισμα 7 (RAF) : ραφινόζη

Βύθισμα 8 (LAC) : λακτόζη

- Σειρά για Δοκιμασία Αντοχής

Το βύθισμα (well) 1 είναι ένας μάρτυρας ανάπτυξης (C+) και περιέχει γλυκόζη.

Τα βυθίσματα 2 έως 8 περιέχουν γλυκόζη και ένα διαφορετικό αντιμυκητιασικό παράγοντα όπως ακολουθεί :

Βύθισμα 2 (AB) : αμφοτερίνη Β (4 µg/mL)

Βύθισμα 3 (NY) : νυστατίνη (200 units/mL)

Βύθισμα 4 (FCT) : φλουκιοσίνη (35 µg/mL)

Βύθισμα 5 (ECZ) : εκοναζόλη (16 µg/mL)

Βύθισμα 6 (KTZ) : κετοконаζόλη (16 µg/mL)

Βύθισμα 7 (MCZ) : μικοναζόλη (16 µg/mL)

Βύθισμα 8 (FCZ) : φλουконаζόλη (16 µg/mL)

Πλαστικό μέσο (tray) CANDIFAST ES twin: Κάθε πλαστικό μέσο μας παρέχει 2 σειρές των 8 βυθισμάτων. Οι δύο σειρές των πηγαδιών είναι ίδια με την δοκιμασία αντοχής της σειράς του πλαστικού μέσου CANDIFAST. Κάθε πλαστικό μέσο επιτρέπει την δοκιμασία 2 δειγμάτων (μόνο δοκιμασία αντοχής).

Αντιδραστήριο 1 : φιαλίδιο 4 mL με ρυθμιστικό θρεπτικό άγαρ για την αραίωση και την ταυτοποίηση.

Σύσταση ανα g/L σε απεσταγμένο νερό :

Εκχύλισμα βοδινού.....1.3

Πεπτόνη κασεΐνης.....1.8

Εκχύλισμα Ζυμομυκήτων.....0.8

Αμινοξέα, βιταμίνες, μέταλλα.....5.75

Ουρία.....20

Άγαρ.....0.52

Αντιβιοτικά.....1.12

pH : 6.05 ± 0.1

Αντιδραστήριο 2 : φιαλίδιο 2 mL με θρεπτικό υλικό YNB (νιτρική βάση ζυμομυκήτων) που περιέχει ουρία και ερυθρό της φαινόλης για δοκιμασία αντοχής.

Σύσταση ανα g/L σε απεσταγμένο νερό :

Εκχύλισμα βοδινού.....1.3

Πεπτόνη κασεΐνης.....1.8

Εκχύλισμα Ζυμομυκήτων.....0.8

Αμινοξέα, βιταμίνες, μέταλλα.....8.75

Ουρία.....20

Γλυκόζη.....8.5

Άγαρ.....0.052

Αντιβιοτικά.....1.16

pH : 7.3 ± 0.1

Turbidity control : φιαλίδιο 4 mL με θειικό βαριούχο διάλυμα.

5. Προφυλάξεις

- Τα αντιδραστήρια ενδείκνυται μόνο για *in vitro* χρήση και πρέπει να χειρίζονται μόνο από ειδικευμένο προσωπικό.

- Τα δείγματα και τα εμβολιασμένα αντιδραστήρια είναι δυνητικά μολυσματικά: πρέπει να χειρίζονται με προσοχή, σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής και τους ισχύοντες κανονισμούς για αυτού του είδους τα προϊόντα στην χώρα χρήσης.

- Τα αντιδραστήρια περιέχουν πρώτες ύλες ζωικής προέλευσης και πρέπει να χειρίζονται με προσοχή.

- Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά από την ημερομηνία λήξης.

- Μην χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια που έχουν υποστεί ζημιά ή δεν

έχουν συντηρηθεί σωστά πριν την χρήση.

6. Συλλογή Δείγματος

Οι αποικίες που χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση και την δοκιμασία αντοχής πρέπει να είναι νεαρές (24-48 ωρών) και σωστά απομονωμένες σε θερμοκρασία δωματίου ή στους 37 °C σε θρεπτικό υλικό με άγαρ, προτιμότερο σε τριβλίο. Συνιστάται η απομόνωση να γίνεται σε θρεπτικό υλικό ειδικό για ζυμομύκητες (3).

7. Αποθήκευση αντιδραστηρίων

Η συσκευασία και τα περιεχόμενα της όταν αποθηκεύονται στους 2-8 °C στην αρχική τους κατάσταση είναι σταθερά μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφει το κουτί. Τα αντιδραστήρια είναι έτοιμα προς χρήση και πρέπει να χρησιμοποιηθούν αμέσως μετά το άνοιγμα τους.

8. Αντιδραστήρια και υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται.

- Παραφινέλαιο
- Αποστειρωμένες πιπέττες
- Επωαστικό κλίβανο 37 °C
- Δοχείο απόρριψης μολυσματικών

9. Διαδικασία

Αφήστε τα αντιδραστήρια να φτάσουν στην θερμοκρασία δωματίου (18-25 °C) πριν την χρήση.

9.1 Προετοιμασία του εναιωρήματος

Συλλέξτε μία απομονωμένη αποικία με ένα συρμάτινο κρίκο ή με μία κλεισμένη πιπέττα Pasteur. Εμβολιάστε το φιαλίδιο με το αντιδραστήριο 1 με την αποικία. Ανακατέψτε καλά. Η πιλοποίηση του εναιωρήματος μπορεί να πραγματοποιηθεί με τρεις διαφορετικούς τρόπους.

• Μέσω σύγκρισης με το φιαλίδιο του μάρτυρα θολερότητας

Προσαρμόστε την θολερότητα του εμβολιασμένου αντιδραστηρίου 1 σε αυτό του μάρτυρα θολερότητας με την βοήθεια των μαύρων γραμμών που είναι εκτυπωμένες στις ετικέτες των φιαλιδίων.

Αν το αντιδραστήριο 1 είναι αραιότερο (ανεπαρκές εμβολιασμένο υλικό), εμβολιάστε το φιαλίδιο περαιτέρω μέχρι η θολερότητα να γίνει ίδια με το φιαλίδιο του μάρτυρα θολερότητας.

Αν το αντιδραστήριο 1 είναι πιο θολό (πολύ εμβολιασμένο υλικό), αραιώστε το με το αντιδραστήριο 1 από κάποιο άλλο πρόσφατα ανοιγμένο φιαλίδιο μέχρις ότου αποκτήσουμε την σωστή θολερότητα.

• Με μετρητή πυκνότητας

Επαληθεύστε με ένα μετρητή πυκνότητας ότι η θολερότητα του εμβολιασμένου αντιδραστηρίου 1 είναι ίση με το 1 Mac Farland. Αν είναι απαραίτητο ακολουθήστε τα παραπάνω για να προσαρμόσετε την θολερότητα.

• Αρίθμηση στο Malassez Cell

Είναι πιθανόν να πιλοποιήσουμε το ενοφθάλμισμα μετρώντας τους ζυμομύκητες στο Malassez Cell. Πρέπει να δημιουργήσουμε ένα διάλυμα των 2,500 με 3,500 ζυμομυκήτων ανά mm³.

9.2 α Εμβολιασμός του πλαστικού μέσου CANDIFAST

Σειρά Ταυτοποίησης

Μαρκάρετε το πλαστικό μέσο για να αναγνωρίζετε το δείγμα που θα εξετάσετε. Ανασηκώστε την αυτοκόλλητη ταινία και διανέμετε σε κάθε βύθισμα της πρώτης σειράς τα ακόλουθα :

-100 µL από το εμβολιασμένο και πιλοποιημένο R1 (αντιδραστήριο 1)

-2 σταγόνες παραφινέλαιο.

Κλείστε το πλαστικό μέσο με την αυτοκόλλητη ταινία.

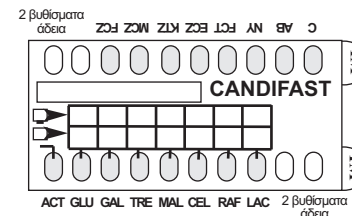
Σειρά δοκιμασίας αντοχής

Πρώτα εμβολιάστε το αντιδραστήριο 2 (R2) με 100 µL εμβολιασμένου και πιλοποιημένου R1. Μετά, ανασηκώστε την αυτοκόλλητη ταινία και διανέμετε σε κάθε βύθισμα από τα 8 της δεύτερης σειράς τα ακόλουθα :

-100 µL από το εμβολιασμένο R2

-2 σταγόνες παραφινέλαιο

Κλείστε το πλαστικό μέσο με την αυτοκόλλητη ταινία.



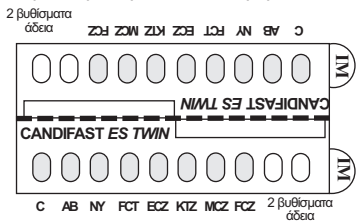
9.2 b. Εμβολιασμός του πλαστικού μέσου CANDIFAST ES Twin

Εμβολιάστε το αντιδραστήριο R2 με 100 μL απο το εμβολιασμένο και πιλοποιημένο R1.

Βάλτε επικέττες και στις 2 σειρές του tray . Ανασηκώστε την διάφανη ταινία και διανέμετε σε κάθε βύθισμα από τα 8 της πρώτης σειράς τα ακόλουθα : -100μl από το εμβολιασμένο R2

-2 σταγόνες παραφινέλαιο

Εμβολιάστε με τον ίδιο τρόπο την δεύτερη σειρά των 8 βυθισμάτων με ένα επιπλέον φιαλίδιο από το εμβολιασμένο R2 όπως περιγράφεται παραπάνω. Κλείστε το πλαστικό μέσο με την αυτοκόλλητη ταινία.



9.3 Επώαση

Επώαστε το πλαστικό μέσο στους 37 °C για 24 ώρες και αν είναι απαραίτητο, εξαρτάται από τα στελέχη, η επώαση αυτή να παραταθεί έως 48 ή και παραπάνω, 72 ώρες. Η ανάπτυξη του πλαστικού μέσου γίνεται όταν οι ζυμομύκητες έχουν αναπτυχθεί στο βύθισμα του μάρτυρα ανάπτυξης (C+).

10. Ανάγνωση και ερμηνεία

Η ολοκλήρωση της ανάγνωσης του πλαστικού μέσου γίνεται μόνο όταν στο βύθισμα του μάρτυρα (C+) υπάρχει η ακόλουθη αλλαγή χρώματος του θρεπτικού υλικού:

- Αλλαγή χρώματος σε κίτρινο , πορτοκαλοκίτρινο , η φούξια*(για τα ουρεάση θετικά γένη).

10.1 Σειρά Ταυτοποίησης

Βύθισμα 1 (ACT)

Το χαρακτηριστικό είναι **θετικό** όταν παρατηρείται αλλαγή χρώματος στο θρεπτικό υλικό:

- **Αλλαγή χρώματος σε κίτρινο, πορτοκαλοκίτρινο, ή φούξια**

Το χαρακτηριστικό είναι **αρνητικό** όταν δεν παρατηρείται αλλαγή χρώματος σε κίτρινο, πορτοκαλοκίτρινο, ή φούξια.

Βυθίσματα 2 έως 8 (GLU έως RAF)

Ένα χαρακτηριστικό είναι **θετικό** όταν παρατηρείται αλλαγή χρώματος στο θρεπτικό υλικό.

- **Αλλαγή χρώματος σε κίτρινο, πορτοκαλοκίτρινο, ή φούξια**

Ένα χαρακτηριστικό είναι **αρνητικό** όταν δεν παρατηρείται αλλαγή χρώματος σε κίτρινο, πορτοκαλοκίτρινο, ή φούξια.

Η ταυτοποίηση των ζυμομυκήτων γίνεται με το πλαστικό μέσο CANDIFAST παράλληλα με την ανάλυση μορφολογικών χαρακτηριστικών των αποικιών. Για την αξιολόγηση, αναφερθείτε στον παρακάτω πίνακα ή στο διάγραμμα που περιέχει η συσκευασία. Οι επισημάνσεις πάνω στην αυτοκόλλητη ταινία μπορούν να χρησιμοποιηθούν: **διαβάστε το βύθισμα της ακτιδίωνης πρώτα· έπειτα, εντοπίστε το τελευταίο θετικό βύθισμα, στην δεξιά πλευρά.** Το όνομα του μικροβίου είναι εκτυπωμένο στην αυτοκόλλητη ταινία στην διασταύρωση μεταξύ της θετικής ακτιδίωνης (κάτω σειρά) και της αρνητικής ακτιδίωνης (πάνω σειρά) και το εντοπισμένο ζάχαρο.

Ζυμομύκητας	ACT	GLU	GAL	TRE	MAL	CEL	RAF	LAC
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	v	+	-	-	-
<i>Candida albicans (var stellatoidea)</i>	+	+	-	v	+	-	-	-
<i>Candida glabrata</i>	v	+	-	+	-	-	-	-
<i>Candida kefyr</i>	v	+	+	-	-	-	v	+
<i>Candida krusei</i>	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Candida lusitanae</i>	-	+	+	+	v	+	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	+	+	-	v	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	-	+	+	+	+	-	-	-
<i>Saccharomyces</i>	-	+	+	v	v	v	+	-
<i>Cryptococcus</i> or <i>Trichosporon</i> or <i>Rhodotorula</i>	v							positive urease

Διαφορική Διάγνωση

- Τα είδη *Cryptococcus*, *Trichosporon* και *Rhodotorula* μπορεί να διαφοροποιηθούν με μορφολογική εξέταση.

- Τα είδη της *Rhodotorula* χαρακτηρίζονται από διακριτές πορτοκαλοκόκκινες αποικίες όταν αναπτύσσονται σε Sabouraud dextrose άγαρ.

- Κάποια στελέχη των ειδών *Cryptococcus* μπορούν να παράγουν μία κοκκινωπή χρώση. Για αυτό τον λόγο τα είδη του *Cryptococcus* πρέπει να εξεταστούν για την παρουσία καφιδίου, με κατεργασία με ινδικό μελάνι.

- Τα είδη *Trichosporon* παράγουν ψευδομυκήτλια όταν αναπτύσσονται σε PCB άγαρ.

Σημείωση

• Από τα είδη των *Saccharomyces*, τα *Saccharomyces cerevisiae* είναι τα κυριότερα ανθρώπινα παθογόνα είδη.

• Τα στελέχη *Saccharomyces boulardii* ή *Saccharomyces cerevisiae* μπορούν να απομονωθούν από ασθενείς οι οποίοι βρίσκονται υπό θεραπεία βασισμένη σε ζυμομύκητες.

• Μια μικροσκοπική εξέταση διαφοροποιεί τα δύο είδη :

• Οι *S. cerevisiae* είναι μεγάλοι σφαιρικοί ζυμομύκητες. Οι *S. boulardii* είναι μικρότεροι σε μέγεθος, αβγοειδούς σχήματος ή επιμηκούς.

• Με τη δοκιμασία CANDIFAST μερικά στελέχη του *Cryptococcus* μπορούν να αναπτυχθούν παρουσία ακτιδίωνης.

10.2 Σειρά της δοκιμασίας αντοχής

Βυθίσματα 2 έως 8 (AB έως FCZ)

Η αλλαγή χρώματος του θρεπτικού υλικού σε κίτρινο, πορτοκαλοκίτρινο, η φούξια δείχνει ότι το στέλεχος που εξετάζεται είναι ικανό να αναπτυχθεί σε αυτό το βύθισμα και για αυτό είναι ανθεκτικό στον αντιμυκητιασικό παράγοντα.

Αν το βύθισμα παραμείνει πορτοκαλοκόκκινο, η ανάπτυξη του εξεταζόμενου στελέχους έχει ανασταλεί από το αντιμυκητιασικό σε αυτό το βύθισμα.

11. Έλεγχος ποιότητας

Συνιστάται να ελέγχετε κατά περιόδους η σταθερότητα της μεθόδου χρησιμοποιώντας τα στελέχη αναφοράς *C. albicans* ATCC 90029 και *C. parapsilosis* ATCC 22019.

Στέλεχη

Στέλεχη	Επώαση	Αναμενόμενα αποτελέσματα															
		ACT	GLU	GAL	TRE	MAL	CEL	RAF	LAC	C+	AB	NY	FCZ	ECZ	KTZ	MCZ	FCZ
<i>C. albicans</i> (ATCC 90029)	24 ώρες	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i> (ATCC 22019)	48 ώρες	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

12. Απίες Λάθους

• Προετοιμασία εναιωρήματος που είναι είτε πολύ συμπυκνωμένο ή όχι αρκετά συμπυκνωμένο.

• Προετοιμασία εναιωρήματος από μικτή καλλιέργεια ή οι απομονωμένες αποικίες αναπτύχθηκαν για περισσότερες από 48 ώρες.

• Η ανάπτυξη του πλαστικού μέσου πριν την εμφάνιση της αλλαγής χρώματος του μάρτυρα ανάπτυξης .

• Η ανάπτυξη του πλαστικού μέσου δεν έγινε μετά από επώαση 24-48 ώρες, έστω και αν ο δείκτης ανάπτυξης ήταν θετικός. Γενικά, η μη προσοχή στις συνστάσεις που περιέχουν οι οδηγίες.

13. Περιορισμοί

• Αυτή η *in vitro* μέθοδος για τον προσδιορισμό της ανθεκτικότητας των αντιμυκητιασικών παραγόντων έχει ενδεικτική αξία στην αλληλοεπίδραση των αντιμυκητιασικών-ζυμομυκήτων κατά την θεραπεία *in vivo* (2,4).

• Η διαδικασία CANDIFAST είναι σχεδιασμένη για την ταυτοποίηση και τον έλεγχο αντοχής στους αντιμυκητιασικούς παράγοντες των ζυμομυκήτων που προέρχονται από βλεννογόνους και μόνο. Για αυτό το λόγο δεν χρησιμοποιείται για στελέχη ζυμομυκήτων των συστηματικών μυκητιάσεων.

• Η διαδικασία CANDIFAST δεν επιτρέπει την κατηγοριοποίηση σε Ευαίσθητος-Μετρίως ευαίσθητος –Ανθεκτικός.

• Κάποια θερμοευαίσθητα στελέχη απομονωμένα στους 20 °C αναπτύσσονται διαφορετικά στους 37 °C. Σε αυτή την περίπτωση, είτε οι ζυμομύκητες δεν θα αναπτυχθούν ή θα αναπτυχθούν πολύ λίγο. Σαν αποτέλεσμα θα είναι πολύ δύσκολο, αν όχι απίθανο, να δώσει αξιόπιστη ταυτοποίηση στελέχους ή να προσδιορίσει την ανθεκτικότητας τους σε συγκεκριμένους αντιμυκητιασικούς παράγοντες.

• Για συγκεκριμένα στελέχη του *C. lusitanae* μία καθυστέρηση στην ανάπτυξη στο βύθισμα TRE κάνει την ταυτοποίηση με τον εσωτερικό πίνακα

δύσκολη να επιτευχθεί.

Η ταυτοποίηση μπορεί επίσης να επιτευχθεί κοιτάζοντας και τις επισημάνσεις στην αυτοκόλλητη ταινία του πλαστικού μέσου (tray).

• Για συγκεκριμένα στελέχη του *C. glabrata*, δυσκολία στην ανάγνωση του χαρακτηριστικού GAL κάνει την ταυτοποίηση με τον εσωτερικό πίνακα δύσκολη να επιτευχθεί. Η ταυτοποίηση μπορεί επίσης να επιτευχθεί κοιτάζοντας και τις επισημάνσεις στην αυτοκόλλητη ταινία του πλαστικού μέσου (tray).

• Η ερμηνεία της δοκιμασίας αντοχής δεν λογαριάζει την θολερότητα του θρεπτικού υλικού που παρουσιάζεται μετά από επώαση με αζολικούς αντιμυκητιασικούς παράγοντες.

14. Χαρακτηριστικά Εφαρμογής

Συλλογή Στελεχών

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας 80 συλλεγμένα στελέχη (31 *Candida albicans*, 17 *C. glabrata*, 11 *C. tropicalis*, 6 *C. lusitanae*, 3 *C. parapsilosis*, 2 *C. kefyr*, 2 *C. krusei*, 5 *Saccharomyces spp.* 2 *Cryptococcus neoformans* και 1 *Trichosporon cutaneum*).

78 στελέχη ταυτοποιήθηκαν σωστά με την βοήθεια των επισημάνσεων της αυτοκόλλητης ταινίας του πλαστικού μέσου και έδειξε συμφωνία 97,5% με την μέθοδο FUNGICHRON του ELITech MICROBIO και την μέθοδο API 32C της bioMérieux. Η ολική συμφωνία της δοκιμασίας αντοχής σε σύγκριση με το FUNGITEST της Bio-Rad και το ATB Fungus tray της bioMérieux ήταν 87,4%.

Κλινικά Στελέχη

Η μελέτη πραγματοποιήθηκε σε 100 προσφάτως απομονωμένα στελέχη που πάρθηκαν από κλινικά δείγματα ασθενών κοινωνικών υπηρεσιών υγείας (72 *Candida albicans*, 9 *C. glabrata*, 8 *C. parapsilosis*, 5 *C. tropicalis*, 3 *C. krusei*, 1 *C. kefyr*, 1 *C. inconspicua* και 1 *Saccharomyces spp.*)

98 στελέχη ταυτοποιήθηκαν σωστά σε σχέση με τη μέθοδο VITEK της bioMérieux. Η ολική συμφωνία της δοκιμασίας αντοχής σε σύγκριση με το FUNGITEST της Bio-Rad και το ATB Fungus tray της bioMérieux ήταν 98,5%.

Μεταξύ 10 συγκρίσεων, έγιναν 3 σημαντικά λάθη και 7 μικρά λάθη. Αυτές οι συγκρίσεις αφορούν 4 στελέχη (2 *C. glabrata*, 1 *C. parapsilosis* και 1 *C. tropicalis*) και 3 αντιμυκητιασικούς παράγοντες: εκοναζόλη (2R/I και 1R/S), κετοναζόλη (1R/I και 2R/S) και μικοναζόλη (4R/I).

15. Εξάλειψη απορριμάτων

Τα απορρίματα θα πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής και τους ισχύοντες κανονισμούς για αυτού του είδους τα προϊόντα, στη χώρα της χρήσης.

16. Βιβλιογραφία

1. DUPONT B. 1987. Résistance de *Candida* aux antifongiques. Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Chap. 4, 23-26.
2. DUPOUY-CAMET J., M.-E. BOUGNOUX, I. VICENS et C. TOURTESCHAEFER. 1989. Intérêts et limites de l'antifongigramme. Rev. Fr. Lab. **197**: 69-72.
3. GRILLOT R., B. LEBEAU et I. SELBMANN. 1989. Isolement et identification des levures, données récentes et perspectives. Rev. Fr. Lab. **197**:24-32.
4. PAUGAM A.. 1996. Intérêt de l'étude *in vitro* de la sensibilité des levures aux antifongiques. Rev. Fr. Lab. **282**: 157-159.
5. KOENIG H., J. WALLER et M. KREMER. 1989. Diagnostic et aspects épidémiologiques de 70 000 levures isolées en 8 ans. Rev. Fr. Lab. **197**: 34-38.

ELITECH MICROBIO

Parc d'activités du plateau
Allée d'Athènes
83870 SIGNES
83870 SIGNES (FRANCE)

Tél : 33 (0)4 94 88 55 00

Fax : 33 (0)4 94 88 55 22

