

CANDIFAST

Maya tanımlama ve antifungal direnç testi
8 test (Ref. 44008) 30 test (Ref. 44030)

CANDIFAST ES TWIN

Antifungallere karşı maya direnci testi
30 test (Ref. 44130)

CPB 0038-TR-2009-03

Yalnızca *in vitro* diagnostik kullanım içindir, sadece profesyonel kullanım içindir.

Tek kullanımlık testler.



1 - İLGI
CANDIFAST kiti, tıbbi alandaki ana mayaları tanımlar ve çeşitli antifungallere karşı onların direncini test eder. CANDIFAST ES TWIN kiti, mayaların çeşitli antifungallere karşı direncini test etmede kullanılır.

2 - GİRİŞ
Fungal enfeksiyonların sıklığı ve özellikle de maya enfeksiyonlarının sıklığı son on yılda önemli ölçüde artmıştır (5). Mayalar, fırsatçı maddelerdir. Çoğu saprofitiktir ancak konakçı koşulları elverişli olduğunda patojenik hale gelebilirler. Bu durumlar başlıca fizyolojik faktörler (yenidogan bebekler, yaşlılar, hamile kadınlara), lokal faktörler (sürtünme, maserasyon), patolojik faktörler (kanser, bağışıklık eksikliği, metabolik bozukluklar, vb), iatrojenik faktörler (antibiyoiterapi, doğum kontrol hapları, bağışıklığı baskılayıcılar, iyonlaştırıcı radyasyon, cerrahi). Bu mayaların neden olduğu klinik tablolar çok çeşitlidir: deri lezyonları (intertrigo, oniks ...), mukozza zarları (pamukçuk, özofajit, kolit, vajinit ...) viseral ve septisemi. Antifungal ürün sayısındaki artış ve ayrıca tedavide dirençli mantarların ortaya çıkması, mantarların antifungallere göre davranışlarının değerlendirilmesini haklı kılmaktadır (1, 2).

3 - İLKE
Mayanın belirlenmesi aşağıdakilere dayanmaktadır:
• renkli göstergenin san, sarı-turuncu veya fuşya rengine dönüşmesi ile görselleştirilen aktidiyona olan gerininin duyarlılığı veya yokluğu,
• ortamın asidifikasyonu nedeniyle renkli indikatörün san veya sarı-turuncu renge dönüşmesi ile görselleştirilen yedi şekerin fermentasyonunun incelenmesi,
• ortamı alkalize eden ve renkli indikatörü fuşyaya dönüştüren bir üreaz aktivitesinin gösterilmesi.
Antifungallere karşı maya direncinin belirlenmesi, farklı antifungallerin varlığında bu mayaların büyümesine veya büyümemesine dayanır. Bu büyüme, ortamın renginin değişmesiyle görselleştirilir:
• Glukozun mayalar tarafından fermentasyonu, ortamın asitleşmesine yol açar ve bu da ortamdaki fenol kırmızısının sarı veya sarı-turuncuya dönüşmesine neden olur.
• Pozitif üreaz mayası ile üreinin hidrolizi, ortamı alkalize eden ve fenol kırmızısını fuşya pembesine dönüştüren amonyak salgılar

Reaktif	Miktar #44008	Miktar #44030	#44130
CANDIFAST	8	30	-
CANDIFAST ES Twin	-	-	15
R1 : Reaktif 1 Şişesi	10	35	35
R2 : Reaktif 2 Şişesi	8	30	30
TC : Bulanıklık kontrolü şişesi	1	1	1

Açıklama:
CANDIFAST : 20'li galeri kullanıma hazır
Her galeri bir örneği test etmek için kullanılır (tanımlama + direnç testi)

Tanımlama için seri
Gözenek 1, aktidyon (ACT), glukoz ve fenol kırmızısı içerir.
2 İla 8 arası gözenekler farklı şekiller ve fenol kırmızısı içerir

Gözenek	İçerik
gözenek 2: (GLU)	glukoz
gözenek 3: (GAL)	galaktoz
gözenek 4: (TRE)	trehaloz
gözenek 5: (MAL)	maltoz
gözenek 6: (CEL)	sellobiyoz
gözenek 7: (RAF)	rafinoz
gözenek 8: (LAC)	laktoz
Gözenek 9 ve 10 boş.	

CANDIFAST ES Twin : Galerisi 2x10 gözenekli kullanıma hazır
Gözeneklerin iki serisi, CANDIFAST galerisinin direnç testine karşılık gelir.
Her bir galeri iki örneği test edebilir (sadece direnç testleri)

R1 , Tanımlama ve seyreltme için tamponlu yarı-agar ortamında 4 mL flakon.
Sığır Özü 1.3 g/L, Kazein Pepton 1.8 g/L, Maya Özü 0.8 g/L, Amino Asitler, Vitaminler, Mineraller 5.75 g/L, Üre 20g/L, Agar 0.52 g/L, Antibiyotik 1.12 g/L pH: 6.05 ± 0.1.
R2 : Direnç testi için sıvı ortamda 2 mL şişe.
Sığır Özü 1.3 g/L, Kazein Pepton 1.8 g/L, Maya Özü 0.8 g/L, Amino Asitler, Vitaminler, Mineraller 8.75 g/L, Üre 20 g/L, Glukoz 8.5 g/L, Fenol Kırmızı 0.052 g/L, Antibiyotik 1.16 g/L, pH: 7.3 ± 0.1.
TC : Seyreltme kontrolü için 4 mL şişe baryum sülfat.

5 - ÖNLEMLER
• Bu kitin reaktifleri *in vitro* kullanım amaçlıdır, sadece yetkili kişiler tarafından kullanılmalıdır.
• Testler sadece tek kullanım içindir.
• Tohumlanan örnekler ve reaktifler potansiyel olarak bulaşıcıdır, hijyen kurallarına ve bu tür ürünlerde kullanılan ülkelerinde yürürlükte olan yönetmeliklere uygun olarak genel önlemler ile birlikte kullanılmalıdır.
• Hayvansal kökenli hammaddeler içeren reaktifler, her zamanki önlemler ile ele alınmalıdır.
• Son kullanma tarihinden sonra reaktifleri kullanmayın.
• Kullanmadan önce hasarlı veya yetersiz koşullarda depolanmış reaktifleri kullanmayın.

6 - ÖRNEKLERİN TOPLANMASI
Tanımlama ve direnç testi kolonilerden yapılmalıdır:
- gençler (24 İla 48 saat)
- tercihen bir petri kabında, oda sıcaklığında veya bir agar ortamında 37 °C'de mükemmel şekilde izole edilir. Mayaya özgü ortamlarda izolasyonun yapılması tavsiye edilir (3).

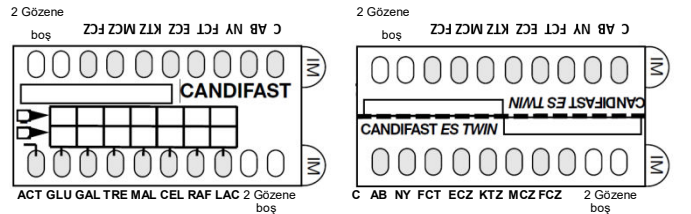
7 - REAKTİFLERİN KORUNMASI
Orjinal durumunda 2-8 °C'de saklanan reaktifler, etiketlerde belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir. Yarım galeri CANDIFAST ES Twin kullanılmayın, orijinal mühürlü ambalajında ve kurutucu poşetiyle 2-8 °C'de 7 gün saklanabilir.

8 - GEREKLİ OLAN ANCAK SAĞLANMAYAN REAKTİF VE MALZEMELER
• Parafin yağı
• 37 °C'de firm
• Steril pipetler
• Kontamine atık için kap

9 - ÇALIŞMA SEKLI
Kullanmadan önce reaktifleri oda sıcaklığına getirin (18-25 °C).

9.1. İnkübasyon hazırlanması
Bir eseye ya da tapalı Pasteur pipet ile izole bir koloni toplayın. Daha sonra onu bir reaktif şişesine boşaltın.
1. Homojenize edin. İnkübulum standardizasyonu farklı yollarla sağlanabilir:
• **Bulanıklık kontrolü için TC şişesi ile karşılaştırıldığında**
Tohumlanmış Reaktif 1'in opaklığını, ufak şişe etiketlerinin siyah çizgileri yardımıyla TC şişesinin opaklığına ayarlayın. Reaktif 1 daha açıkça (inkübulum eksikse), flakon/küçük şişeyi TC flakonununkine eşit olana kadar yeniden tohumlayın.
Reaktif 1 daha koyu ise (inkübulum çok zengin), opaklık doğru olana kadar yeni bir Reaktif 1 flakonu ile seyreltin.
• **Densitometrinin kullanılması**
Tohumlanmış Reaktif 1'in bulanıklığının 1 Mac Farland'a eşit olduğunu bir densitometre ile doğrulayın. Gerekirse, bozukluğu düzeltmek için önceden belirtilmiş şekilde işlem yapın.
• **Malassez hücre sine sayma**
Malassez hücre sine bir maya sayımı yaparak inkübulumun standartlaştırılması mümkündür. 3 başına 2500 İla 3500 mayalı bir çözeltide edilebilir.
9.2a. CANDIFAST galerisinin asılanması Tanımlama için seri

Galeriyi tanımla. Yapışkanlı etiketi kaldırın, ardından ilk 8 çukuruğun her birine dağıtın:
- 100 µL R1 tohumlu ve standardize
- 2 damla parafin yağı.
Çukurcu serisini yapışkanlı etikete örtün.
Direnç testi için seriler
İlk adımda, Reagent 2'yi 100 µL tohumlu ve standartlaştırılmış Reaktif 1 ile inkübe edin (bakınız bölüm 9.1). Daha sonra ikinci kez yapışkanlı etiketi kaldırın ve ilk 8 çukuruğun her birine dağıtın:
- Önceden tohumlu 100 µL R2
- 2 damla parafin yağı.
Çukurcu serisini yapışkanlı etikete örtün.
9.2b. CANDIFAST ES Twin galerisinin inkübe edilmesi İlk örnek için seri
R2 reaktifini 100 µL tohumlu ve standardize R1 reaktifi ile inkübe edin.
Galerinin her bir tarafını iyi şekilde tanımlayın.
Yapışkanlı etiketi kaldırın ve ilk serinin ilk 8 gözünün her birine dağıtın:
- Önceden tohumlu 100 µL Reaktif 2
- 2 damla parafin yağı.
Çukurcu serisini yapışkanlı etikete örtün.
İkinci bir örnek için seri
Aynı şekilde, ikinci seri, yukarıda açıkladığınız gibi önceden tohumlu başka bir Reaktif 2 flakonu ile inkübe edilir.
Çukurcu serisini yapışkanlı etikete örtün.



9.3. İnkübasyon
Galeriyi 24 saat süreyle 37 °C'de inkübe edin, gerekirse ve suşlara bağlı olarak inkübasyonu 48 saat hatta 72 saate kadar devam ettirin.
Mayalar kontrol kuyusuna yönettildiğinde galeriyi okuyun.

10 - GALERİ OKUMA VE YORUMU
Tüm galeriyi yalnızca kontrol gözeneginde (C +: direnç testi için serinin Gözenek 1'i) birinin ortamın renk değişiminin gözlemlenmesi durumunda okuyun:
- **sarı veya sarı-turuncu veya fuşya'ya renk değişimi (pozitif üreaz türleri için) 10.1**
Tanımlama için seri
Gözenek 1 (ACT)
ACT gözeneginde bir ortam renginde bir değişiklik gözlemlerse karakter pozitifdir:
- **Sarı veya sarı-turuncu veya fuşyaya renk değişimi**
Negatif bir karakter, sarı veya sarı-turuncu veya fuşyaya renk değişiminin yokluğu ile sonuçlanır.
Gözenek 2 İla 8 (GLU İla RAF)
Bir gözeneklerin birinde ortam renginde bir değişiklik varsa bir karakter pozitifdir:
- **Sarı veya sarı-turuncu veya fuşyaya renk değişimi**
Negatif bir karakter, sarı veya sarı-turuncu veya fuşyaya renk değişiminin yokluğu ile sonuçlanır.
Maya tanımlaması, galeri ve kolonilerin morfolojik karakterleri kullanılarak gerçekleştirilir.
Yorumlama için, aşağıdaki tabloya veya kitle bulunan sayfaya bakın. Ayrıca galerinin yapıstırıcısı üzerine yazılan endikasyonları kullanmak da mümkündür: **actidione gözeneklerini (ACT) okuyun, sonra sağdaki son pozitif gözenekleri bulun**. Tohumun adı, yapıstırıcı üzerinde, aktidyonun pozitif (alt sıra) veya negatif (üst sıra) karakterinin tespit edilen şekerin kesişim noktasında belirtilir.

Maya	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	+
<i>Candida krusei</i>	v	+	-	-	-	-	-	-
<i>Candida lusitanae</i>	-	+	+	+	v	+	-	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	+	+	-	v	-	-	-
<i>Candida tropicalis</i>	-	+	+	+	+	-	-	-
<i>Saccharomyces</i>	-	+	+	v	v	v	+	-
Türler <i>Cryptococcus</i> veya <i>trikosporon</i> veya <i>Rhodotorula</i>	v							pozitif üreaz

• **Ayrıntı tanı**
Türler *Cryptococcus*, *trikosporon* ve *Rhodotorula* morfolojik karakterler ile ayırt edilebilir.
- *Rhodotorula* Sabouraud agar üzerinde karakteristik somon kırmızı kolonileri verir.

- *Cryptococcus* 1/5 seyreltilmiş Hint mükrebbi ile renklendirilmiş bir polisakkarid kapsülüne sahiptir. O *Rhodotorula* kolonilerinden daha az yoğun somon kırmızı renkli Sabouraud agar kolonileri verir.
- *Trikosporon* Bir PCB ortamında bir psödomiyosium sunar.
• **Uyarılar**
• *Saccharomyces*, *Saccharomyces cerevisiae* cinsleri, nsnarlarda bulunan ana patojenik türlerdir.
• *Saccharomyces boulardii* veya *Saccharomyces cerevisiae* suşları maya tabanlı işlemlerde hastadan izole edilebilir.
• Mikroskobik bir inceleme, iki türün ayır edilmesini mümkün kılabilir:
- *S. cerevisiae* büyük boy küresel mayalardır.
- *S. boulardii* daha küçük boyutlu uzalımı varlığını ovaldır.
• CANDIFAST galerisi ile bazı suşlar *Cryptococcus* aktifliğinde büyüyebilir.

10.2 Direnç testi için seriler
2 İla 8 arası gözenek (AB İla FCZ)
Ortamın sarıdan sarı-turuncuya ya da fuşyadan renkte değişimi, test edilen suşun antifungal test edilen konsantrasyonunda büyüyeceğidir gösterir. Bu durumda, suş dirençli hale gelir.
Tersine, ortamın turuncu-kırmızı rengi, suşun kupula içine bulunan antifungal tarafından engellendiğini gösterir. Yeterimin standardizasyonunu doğrulamak için periyodik olarak bir kalite kontrolünün yapılması tavsiye edilir. referans suşları kullanarak, *C. albicans* ATCC 90029 ve *C. parapsilosis* ATCC 22019.

Suş	İnkübasyon	ACT	GLU	GAL	TRE	MAL	CEL	RAF	LAC	C+	AB	N	FCT	ECZ	KTZ	MCZ	FCZ
<i>C. albicans</i> (ATCC 90029)	24 saat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. parapsilosis</i> (ATCC 22019)	48 saat	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

12 - HATALARIN NEDENLERİ
• Bir inkübulum (aşılma maddesinin) çok zengin veya çok zayıf bir şekilde hazırlanması.
• İnkübulumun bir kültür karışımından veya 48 saatten fazla izole edilmiş kolonilerden hazırlanması.
• Büyüme kontrol gözünde bir renk değişikliğinin yokluğunda galerinin okunması.
• Büyüme kontrol gözünde renk değişiminin olmasından 24 ya da 48 saat sonra galerinin okunması.
Ve genel olarak, bu sonuçların önlerini almak için:

13 - METODUN SINIRLAMALARI
• Bu belirleme yöntemi *in vitro* antifungallere karşı dirençli antifungal-maya çifti etkileşimi üzerinde belirleyici bir değeri vardır *in vivo* işlemler esnasında (2,4).
• CANDIFAST yöntemi, mukokutan kaynaklı suşların dirençli belirlemek ve tespit etmek için geliştirilmiştir. Bu nedenle izole sistemik mikozis suşları için önerilmemektedir.
• CANDIFAST yöntemi, Duyarlı Orta Dirençli'de kategorilere izin vermez.
• 20 °C'de izole edilen ısıya duyarlı suşlar 37 °C'de farklı şekilde büyür; bu durumda, ya mayalar büyümeyecek ya da yetersiz bir şekilde büyüyebilecek ve bazı antifungallere karşı dirençli belirlenmesi ve gösterilmesi başarısız olacaktır.
• Bazı *C. lusitanae* suşları için, TRE gözünde büyüme gecikmesi, tablo okumasıyla belirlemeye olanak vermez.
• Etiket okumayı dikkate alın.
• Bazı *C. glabrata* suşları için GAL karakterini okuma zorluğu tablo ile tanımlanmaya olanak vermez.
• Etiket okumayı dikkate alın.
• Direnç testlerinin okunmasından yorumlanması, azol antifungalleri için inkübasyonu sonrası ortaya çıkabilecek bir engelleme olan karşılıklı dikkate alınmalıdır

14 - PERFORMANSLAR
Toplama suşları üzerinde çalışma
Çalışma 80 toplama suşu üzerinde gerçekleştirilmiştir (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* ve 1 *Trichosporon cutaneum*...
78 suş, etiket okumayla ya da d'ELTech MICROBIO'nun FUNGICROM yöntemi veya Biomérieux'un API 32C'sine göre % 97.5 uyum ile doğru şekilde tanımlanmıştır.
Direnç testinin genel eşleşmesi, Biorad'un FUNGITEST ve Biomérieux'un ATB Fungus galerisi ile karşılaştırıldığında % 87.4'tür.
Klinik suşlar üzerinde çalışma
Çalışma, kentsel tıpta klinik örneklerden 100 yeni izole edilmiş suş üzerinde gerçekleştirilmiştir (72). *Candida albicans*, 9 *C. glabrata*, 8 *C. parapsilosis*, 5 *C. tropicalis*, 3 *C. krusei*, 1 *C. kefyr*, 1 *C. inconspicua* ve 1 *Saccharomyces* spp).
Biomérieux'un VITEK sistemine göre 98 suş doğru şekilde tanımlanmıştır.
Direnç testinin genel eşleşmesi, Biorad'un FUNGITEST ve Biomérieux'un ATB Fungus galerisi ile karşılaştırıldığında % 98.5'tür. 10 uyumsuzluk arasında, 3 önemli uyumsuzluk ve 7 küçük uyumsuzluk. Bu uyumsuzluklar 4 suşa ilgilirdir (2 *C. glabrata*, 1 *C. parapsilosis* ve 1 *C. tropicalis*) ve ekonozol (2 R/ ve 1 R/S), ketokonazol (1 R/ ve 2 R/S) ve mikonazol (4R/1) dahil olmak üzere 3 antifungal.

15 - ATIKLARIN ATILMASI
Atık, kullanılan ülkedeki bu tür reaktifler için geçerli olan hijyen kurallarına ve yönetmeliklerine uygun olarak ortadan kaldırılmalıdır.

16 - BİBLİYOGRAFI
1. DUPONT B. 1987. *Candida'nın* antifungal direnci. Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Chap. 4, 23-26.
2. DUPOUY-CAMET J., M.-E. BOUGNOUX, I. VICENS ve C. TOURTE-SCHAEFER. 1989. Intérêts et limites de l'antifongogramme. Rev. Fr. Lab. 197: 69-72.
3. GRILLLOT R., B. LEBEAU ve I. SELBMAN. 1989. Mayaların izolasyonu ve tanımlanması, son veriler ve perspektifler. Rev. Fr. Lab. 197:24-32.
4. PAUGAM A. 1996. Intérêt de l'étude *in vitro* de la sensibilité des levures aux antifongiques. (Mayaların antifungallere olan duyarlılığının *in vitro* olarak incelenmesi.) Rev. Fr. Lab. 282: 157-159.
5. KOENIG H., J. WALLER et M. KREMER. 1989. 8 yılda 70.000 izole mayanın tanısı ve epidemiyolojik özellikleri. Rev. Fr. Lab. 197: 34-38.

Önceki sürümdeki değişiklikler gri renkte vurgulanır.

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

