

**Vertinkite visą plokštelę tik tuomet, kai kontrolinė duobutė (C+ : 1 duobutė**

atsparumo tyrimas) yra terpės spalvinis pasikeitimas:  
Spalva pasikeičia į geltoną, geltonai-oranžinę ar fuksino (ureazei teigiama)

10.1 Identifikavimo eilutė

Duobutėl (ACT)  
Teigiamas rezultatas, kai spalva **pasikeičia į geltoną, geltonai-oranžinę ar fuksino**.  
Neigiamas rezultatas, kai duobutėje esanti terpė išlieka nepakeitusi spalvos į geltoną, geltonai-oranžinę ar fuksino.  
Duobutės 2-8 (GLU-RAF)  
Teigiamas rezultatas, **kai spalva pasikeičia į geltoną, geltonai-oranžinę ar fuksino**.  
Neigiamas rezultatas, kai duobutėje esanti terpė išlieka nepakeitusi spalvos į geltoną, geltonai-oranžinę ar fuksino.  
Mielių identifikavimo tyrimas atliekamas CANDIFAST plokštelėje bei pasitelkiant morfologinį kolonijų savybių įvertinimą.  
Vertinant rezultatus pasitelkite į pagalbą lentelę, esančią žemiau arba schemą, kuri įeina į rinkinį. Taip pat gali būti panaudoti žymėjimai ant plokštelės lipnios juostelės: **pirmiausiai vertinkite aktidiono duobutę; tuomet nustatykite paskutinę teigiamą duobutę, pradedant iš dešinės**. Svarbiausios genties pavadinimas yra nurodytas ant lipnios juostelės aktidiono-teigiamos (žemesnė eilė) arba aktidiono - neigiamos (viršutinės eilės) savybės ir angliavandens susikirtimo vietoje. Identifikavimo lentelė

|                                                                         |             |                  |             |             |             |             |             |             |
|-------------------------------------------------------------------------|-------------|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Mielės                                                                  | A<br>C<br>T | G<br>L<br>U      | G<br>L<br>A | T<br>R<br>E | M<br>A<br>L | C<br>A<br>L | R<br>E<br>F | L<br>A<br>C |
| <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 sp</i>                                                 | -           | +                | +           | V           | V           | V           | +           | -           |
| <i>Cryptococcus</i> ar <i>Trichosporon</i> ar <i>Rhodotorula genera</i> | V           | ureazei teigiama |             |             |             |             |             |             |

v : kintamasis (+ arba -)

**Diferenciacijavimo eilutė:** *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Rhodoturola* gentys diferencijuojamos morfologiškai.  
- *Rhodoturola* genti charakterizuoja oranžinės-raudonos kolonijos augančios ant Saburo dekstrozės agaro.  
- kai kurios *Cryptococcus* rūšys gali turėti raudoną pigmentą. Bet jos turi turi sudaryti kapsules reaguodamos su India ink reagentu.  
- *Trichosporon* gentis auganti ant PCB agaro terpės išskiria pseudofidia.

**Pastaba:**  
- *Saccharomyces* gentyje žmonėms būdinga *Saccharomyces cerevisiae* rūšis.  
- *Saccharomyces boulardii* ar *Saccharomyces cerevisiae* rūšys gali būti išskirtos žmonėms, kurie gydomi dėl mielių.  
- Mikroskopuojant galima diferencijuoti dvi rūšis:  
- *S. cerevisiae* - didelės, sferinės formos  
- *S. boulardii* - mažesnės, kiaušinio formos ar iššęstos.

Atliekant CANDIFAST tyrimą esant aktidionui gali augti kai kurios *Cryptococcus* rūšys.

10.2 Atsparumo eilutė

duobutės 2-8 (AB-FCZ)  
Terpės spalvos pasikeitimas į geltoną, geltonai -oranžinę ar fuksino parodo, kad tiriamasis štamas gali augti toje duobutėje, o tai savo ruožtu reiškia, kad jis **atsparus** toje duobutėje esančiam priešgrybiniam preparatui. Bet jeigu duobutės turinys lieka skaidrus ir oranžinio raudonumo spalvos, tai reiškia, kad štamo augimas buvo stabdomas ir jis nėra atsparus duobutėje esančiam priešgrybiniam preparatui.

11 - KOKYBĖS KONTROLĖ

Rekomenduojama atlikti periodinę kokybės kontrolę naudojant *Candida albicans* ATCC 90029 ir *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

|                                  | Inkubavim o laikas | Laukiami rezultatai |             |             |             |             |             |             |             |
|----------------------------------|--------------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                                  |                    | A<br>C<br>T         | G<br>L<br>U | G<br>A<br>L | T<br>R<br>E | M<br>A<br>L | C<br>A<br>L | R<br>E<br>F | L<br>A<br>C |
| <i>C.albicans</i> ATCC 90029     | 24 valandos        | +                   | +           | +           | -           | +           | -           | -           | -           |
| <i>C.parapsilosis</i> ATCC 22019 | 48 valandos        |                     | +           | +           | -           | -           | -           | -           | -           |
|                                  |                    | C<br>+              | A<br>B      | N<br>Y      | F<br>C      | E<br>T      | K<br>Z      | M<br>Z      | F<br>Z      |
| <i>C.albicans</i> ATCC90029      | 24 valandos        | +                   | -           | -           | +           | -           | -           | -           | -           |
| <i>C.parapsilosis</i> ATCC22019  | 48 valandos        | +                   | -           | -           | -           | -           | -           | -           | -           |

12 - GALIMOS KLAIDOS

- Per didelė ar per maža paruošto inokulianto koncentracija.
  - Mišrių kolonijų inokulianto paruošimas arba kai kolonijų augimas ilgesnis nei 48 valandos.
  - Kai rezultatas plokštelėje įvertinamas nepasikeitus spalvai augimo kontrolės duobutėje.
  - Kai rezultatas neįvertinamas praėjus 24-48 valandos inkubuojant, kai fiksuojamas teigiamas augimas.
- Kai nesilaikoma tyrimo eigos.

13 - GALIMOS KLAIDOS

- Nustatant atsparumą priešgrybiniams preparatams *in vitro* diagnostikoje įtakos gali turėti *in vivo* gydymo kursas [2, 4].
- CANDIFAST tyrimas skirtas tik mikokutaninių mielių identifikavimui bei atsparumo nustatymui, bet ne mielių štamų susijusių su sisteminėmis mikozėmis.
- CANDIFAST tyrimas neleidžia vertinti jautru-tarpinė-atsparu.
- Kai kurie štamai termiškai jautrūs štamai auga skirtingai inkubuojant 20 °C ir 37 °C temperatūrose. Tokiu atveju, mielės neaugs arba li būti sunku, jeigu iš viso įmanoma, jas įdentifikuoti ir įvertinti jų atsparumą tam tikriems priešgrybiniams preparatams.
- *C. lusitanae* augimas yra labia lėtas, TRE duobutė, todėl naudojant identifikacinę lentelę sunku nustatyti rūšį. Būtina žiūrėti į ant lipnios juostelės esančius ženklus.
- *C. glabrata* augimas yra labia lėtas, GAL duobutė, todėl naudojant identifikacinę lentelę sunku nustatyti rūšį. Būtina žiūrėti į ant lipnios juostelės esančius ženklus.
- Vertinant atsparumo rezultatus nereikia kreipti dėmesio į terpės drumstumą, kuris gali atsirasti inkubuojant azolinius priešgrybinius preparatus.

14 - PAGRINDINĖS CHARAKTERISTIK

Kolekciniai štamai

Tyrimams buvo panaudoti 80 štamai (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* ir 1 *Trichosporon cutaneum*). 78 štamai buvo teisingai idnetifikuoti, rezultatai atitiko 97,5% lyginant ELITech MICROBIO FUNGICHROM metod1 su Biomérieux API 32C metodu. Lygintas atsparumo tyrimas su Bio-Rad FUNGITEST ir Biomérieux ATB Fungus plokštele, atitikimas 87,4%.

Klinikiniai štamai

Buvo ištirta 100 šviežių izoliuotų štamų išskirtų iš klinikinių mėginių (ligoninės) (72 *Candida albicans*, 9 *C.glabrata*, 8 *C.parapsilosis*. 5 *C.tropicalis*, 3 *C.krusei*, 1 *C.kefyr*, 1 *C.inconspicua* ir 1 *Saccharomyces spp.*). 98 štamai buvo nustatyti teisingai lyginant su Biomérieux VITEK metodu. Atsparumo tyrimo rezultatai lyginti su Bio-Rad FUNGITEST ir Biomérieux ATB Fungus plokštelėm, atitikimas 98,5%. Neatitiko 10 tyrimų, 3 aiškos klaidos ir 7 smulkios klaidos. Neatitikim1 išryškino 4 štamai (2 *C. glabrata*, 1 *C. parapsilosis* ir 1 *C. tropicalis*) ir 3 priešgrybiniai preparatai: ekonazolis (2 R/I ir 1 R/S), ketonazolis (1 R/I ir 2 R/S) ir mikonazolis (4 R/I).

15 - ATLIKEŲ UTILIZAVIMAS

Atliekos turi būti utilizuotos laikantys šalyje nustatytų higieninių normų.

16 – LITERATURA

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. TOURTE-SCHAEFER. 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.

Pakeitimai nuo ankstesnės versijos paryškinti pilka spalva.



**ELITech MICROBIO**  
Parc d'activités du plateau  
19, allée d'Athènes  
83870 SIGNES  
FRANCE  
Tel : 33 (0)4 94 88 55 00