

ELIchrom *glabrata*

Rychlý test pro identifikaci *Candida glabrata*

40 testů
(Kat.č. 44506)

8000050-en-2010-02

1 - ZÁMĚR

ELIchrom *glabrata* je rychlý jednotný test (20 minut) pro rychlou identifikaci kolonií *Candida glabrata*.

Každý kit umožňuje provedení 40 testů.

2 - ÚVOD

Kvasinky rodu *Candida* mohou být odpovědné za kutánní kandidózy, mukosální kandidózy a kandidémie nebo invazivní kandidózy.

Candidas jsou obvykle komenzální kvasinky trávicích nebo urogenitálních sliznic. Stávají se patogenními, jen pokud v hostiteli vzniknou příznivé podmínky. Mezi těmito faktory, které podporují kandidovou infekci jsou vnitřní fyziologické faktory nebo umocnění (pokročilý věk, těhotenství, diabetes, imunologické deficience a nádorové onemocnění). Jako vnější faktor se primárně udává přírodní léčba. Prevalence kandidóz významně vzrostla během posledních dvaceti let, jako důsledek vzniku onemocnění jako jsou AIDS, generalizovaný antibioidní léčby a antikoncepčních pilulek, vývoje terapeutických imunosupresivních činidel, parenterální výživy a zmnohonásobené agresivních vyšetřovacích metod a chirurgických zákroků. Například kandidémie odpovídají za přibližně 10% nozokomiálních infekcí, podle určitých studií může jít až o 20%. Navíc prognóza kandidózy je špatná, s úmrtností postižených pacientů pohybující se mezi 38 a 50%.

C. albicans je nejčastěji izolovaným druhem. Odpovídá za 60 až 80% klinických izolátů. Avšak další druhy jako jsou *C. dubliniensis* (druh velmi blízký *C. albicans*), *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis* a *C. lipolytica*, jsou stále častěji uváděny jako organismy způsobující mykózu.

Studie ukazují, že *C. glabrata* je zapletená do 5 až 25% všech případů kvasinek izolovaných v lékařské mykologii. Tento druh je druhou nejčastější kvasinkou u lidí. Její patogenní povaha už je nesporná, *C. glabrata* je odpovědná za 10 až 25% všech kandidií. Navíc je *C. glabrata* vysoce odolná méně citlivá k derivátům azolu, ukazuje se, že některé izoláty od pacientů léčených fluconazolem nebo ketokonazolem se stávají rezistentními k prakticky všem azolovým derivátům.

Izolace a rychlá identifikace *C. glabrata* je proto nezbytnou volbou zdravotnického personálu. Tradičně jsou pro identifikaci *C. glabrata* používány biochemické testy. Nevýhodou auxanogramu uhliku (studium asimilace monosacharidů jako zdroje uhliku a energie) a zymogramu (studium využití monosacharidů v anaerobióze) je to, že před tím než mohou být testy odečteny, tak se musí čekat dlouhých 24 až 48 hodin.

C. glabrata může být určena mnohem rychleji pomocí systémů založených na detekci enzymů, které využívají chromogenní substráty nebo které jsou založené na asimilaci trehalózy.

ELIchrom *glabrata* je rychlý test pro identifikaci *C. glabrata* založený na detekci trehalózy.

3 - PRINCIP

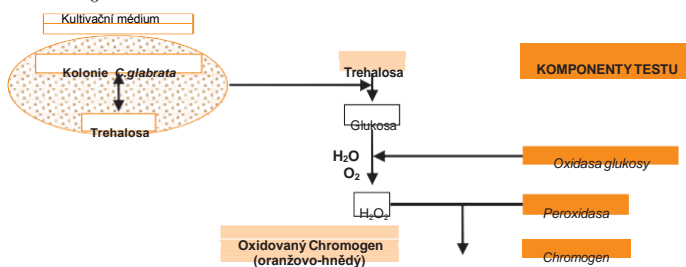
Z kvasinek lékařského zájmu je *C. glabrata* schopná za určitých podmínek rychle hydrolyzovat trehalózu na glukózu. Proto může být detekce produkce glukosy spolehlivě použita k určení tohoto druhu. Avšak navíc k testu trehalózy musí být také provedeny dvě kontroly:

- je nutná kontrola maltózy, protože některé izoláty *C. tropicalis* umí také degradovat trehalózu, na rozdíl od *C. glabrata* ale i asimilují maltózu.

- kontrola se provede v nepřítomnosti monosacharidů (kontrola reagenie základního média). To je nezbytné kvůli přítomnosti glukosy v izolačním médiu. Proto pokud při odebrání kolonie není postupováno dostatečně opatrně, může existovat riziko kontaminace vzorku agarom, což vede k falešně pozitivní reakci.

ELIchrom *glabrata* umožňuje identifikaci *C. glabrata* pomocí tří kroků:

1. Příprava suspenze kvasinek v destilované vodě
2. Inkubace suspenze kvasinek s trehalózou nebo maltózou (kontrola kvasinek) nebo se základním médiem (kontrola izolačního média).
3. Detekce přítomnosti glukózy pomocí relevátoru, který obsahuje oxidázovou chromosy, peroxidázovou chromosy a chromogenní substrát.



4 - REAGENCE

Popis	Množství
REAG : lahvička s lyofilizovanou reagenií (k rekonstituci se 1,3 ml sterilní destilované vody)	3
TEST CARD : Testovací panely s 12 jamkami, z nichž 4 jsou pro identifikaci -T jamky obsahují základní médium a trehalózu -M jamky obsahují základní médium a maltózu -B jamky obsahují základní médium	10

5 - BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Reagencie jsou určeny pouze pro in vitro použití a musí s nimi zacházet pouze vyškolený personál.
- Ujistěte se, že se dehydratované médium nijak nezměnilo (přítomnost modrého barviva ve všech jamkách).
- Vzorky jsou potenciálně infekční, musí se s nimi zacházet opatrně v souladu s hygienickými pravidly a aktuálními předpisy pro daný typ produktu a zemí jeho použití.
- Nepoužívejte reagenie po datu expirace.
- Nepoužívejte reagenie z různých šarží.
- Před použitím nechte reagenie vytemperovat na pokojovou teplotu.

TEST CARD : T : Toxický.

- Obsahuje chloramfenikol.
- R45: Může vyvolat rakovinu.
- S45 V případě nehody, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě vyhledejte lékařskou pomoc (je-li možno, ukažte toto označení)

REAG : T : Toxický.

- Obsahuje oxidasu glukosy a 3,3-dimethoxybenzidin dihydrochlorid.
- R22: Zdraví škodlivý při požití
- R42: Může vyvolat senzibilizaci při dechování
- R45: Může vyvolat rakovinu
- S22: Nevdechujte prach.
- S45: V případě nehody, nebo necítíte-li se dobře, okamžitě

- vyhledejte lékařskou pomoc (je-li možno, ukažte toto označení)
- S53: Zamezte expozici - před použitím si obstarejte speciální instrukce

6 – ODBĚR VZORKU

ELIchrom *glabrata* může být proveden na kvasinkách izolovaných z 24-96 hod kultury při +37°C nebo +22°C (Sabouraud médium nebo *Candida* chromogenní médium).

7 - STABILITA, UCHOVÁVÁNÍ A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Testovací kartičky **TEST CARD** stejně jako reagenie **REAG** (lyofilizovanou i rozpuštěnou) skladujte při 2-8°C a nevytvářejte je světlu.

Po rozpuštění je reagenie **REAG** stabilní 2 měsíce při 2-8°C.

Trvanlivost rozpuštěné reagenie **REAG** může být prodloužena až na 6 měsíců zamrazením (-20°C) 75 µl alikvot (v mikrozkmavkách s dobře uzavřeným uzávěrem) ihned, jakmile je reagenie rekonstituována. Rozmrazená reagenie **REAG** nemůže být znovu zamrazena.

8 - POŽADOVANÝ, ALE NEDODÁVANÝ MATERIÁL

- Automatické pipeta(y) s objemem přizpůsobeným měřenému objemu
- Hemolytické zkumavky
- Sterilovaná destilovaná voda
- Nádoba na kontaminovaný odpad
- Pasteurova pipeta nebo klička

9 - METODA

Před použitím nechte reagenie vytemperovat na pokojovou teplotu.

1 Rozpuštění reagenie REAG:

- S obezřetností otevřete reagenie **REAG** (lahvička s podtlakem).
- Do lahvičky napipetujte 1,3 ml sterilní destilované vody a opatrně protřeště.

2 Provedení testu:

- Podle množství testovaných vzorků kvasinek vyjměte adekvátní počet testovacích kartiček **TEST CARD** (v případě jedné kvasinky, rozstříhnete kartičku tak, aby obsahovala jamky **T**, **M** i **B**).

- Označte hemolytickou zkumavku a napipetujte do ní 100 µl sterilní destilované vody.
- Při sbírání kolonií kvasinek, které budou identifikovány testem, dejte velký pozor na kontaminaci. Kolonie homogenizujte ve 100 µl destilované vody, aby byl zákal suspenze ekvivalentní stupni 5 na Mc Farlandově stupnici. (3 až 4 kolonie pokud byla kultivace provedena na Sabouraud médiu a 3 až 8 kolonie podle jejich velikosti, pokud byla kultivace provedena na chromogenním médiu).
- Mikropipetou napipetujte 25 µl připravené suspenze kvasinek na modré body v **jamkách T, M** i **B**.

- Test 10 minut inkubujte při pokojové teplotě (prodloužení inkubačního času v žádném případě neovlivňuje finální výsledek).

- Do jamek **T, M** a **B** napipetujte mikropipetou 25 µl reagenie **REAG**.

- 5 až 10 minut inkubujte test při pokojové teplotě.

- Odečtěte výsledky.

Důležité: Pokud má být odečet výsledků opožděný, může být reakce blokována přidávkem 25 µl H₂SO₄ (3M) do každé jamky. Při pozitivní reakci se zbarvení jamky změní na hnědou/šedou a pak fuchsiovou. V případě negativní reakce je jamka slabě namodralé zbarvená.

10 - ODEČET

Pozitivní reakce: Objeví více či méně intenzivního oranžového zbarvení

Negativní reakce: Žádné zbarvení

11 - INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

VÝSLEDKY			INTERPRETACE
JAMKA T (Trehalóza)	JAMKA M (Maltóza)	JAMKA B (Základní médium)	
Pozitivní	Negativní	Negativní	<i>C. glabrata</i> .
Negativní	Negativní	Negativní	Kvasinka není <i>C. glabrata</i> . Pokračujte v identifikaci.
Pozitivní	Pozitivní	Negativní	Kvasinka není <i>C. glabrata</i> . Pokračujte v identifikaci.
Negativní	Pozitivní	Negativní	Kvasinka není <i>C. glabrata</i> . Pokračujte v identifikaci.
Pozitivní	Pozitivní	Pozitivní	Neinterpretovatelné. Opakujte test s odebranými koloniemi kvasinek bez agaru.

12 – PŘÍČINY CHYB A LIMITY TESTŮ

Neenabete spolu s koloniemi agar, protože to může vést k neinterpretovatelným výsledkům. Ve všech případech je nutné před stanovením finální diagnózy brát v úvahu klinická, epidemiologická a biologická data.

13 - CHARAKTERISTIKA TESTU

Vyhodnocení výsledků testu **ELIchrom glabrata** dokazuje, **citlivost od 93,8 do 97,9%** (v závislosti na použitém izolačním médiu - 97,9% u *Candida* ID, *CandiSelectu* a *Sabouraud média* a 93,8% u *CHROMagar Candida média*) a **specifičnost od 97,6 do 98,8%** (98,8% u *Sabouraud* a *CHROMagar Candida média*, 98% u *Candida ID média* a 97,6% u *CandiSelect média*). (Raymond Robert - Laboratoire de Parasitologie/Mycologie, Faculté de Pharmacie, 49100 Angers and Anne-Marie Freydière - Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Debrousse, Hospices Civils de Lyon, 69322 Lyon).

14 - LIKVIDACE ODPADU

Odpad by měl být likvidován v souladu s hygienickými předpisy a aktuálními směrnici pro tento typ produktu a zem použití. Po vylití reagenie **TEST LATEX** nebo v případě kontaminace pracovní plochy koloniemi, vyčistěte povrch pomocí dezinfekčního prostředku na bázi chloru a pipárovou utěrkou.

15 - LITERATURA

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., Declercq 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., Billeteaux 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. Freydière A. M., Guinet R., and Boiron P. 2001. Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypic 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., 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

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., Diekmann 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.
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. 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.
13. 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
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.

ELITech MICROBIO Parc
d'Activités du Plateau 19
Allée d'Athènes 83870
SIGNES FRANCE
: 04 94 88
55 00
Fax : 04 94 88 55 22

