

CANDIFAST®

Identification des levures et test de résistance aux antifongiques

8 tests (Réf. 44008) 30 tests (Réf. 44030)

CANDIFAST® ES TWIN

Test de résistance des levures aux antifongiques

30 tests (Réf. 44130)

FR-2003-03

1 - INTENT

Le coffret CANDIFAST permet d'identifier les principales levures d'intérêt médical et de tester leur résistance à divers antifongiques. Le coffret CANDIFAST ES TWIN permet de tester la résistance des levures à divers antifongiques.

2 - INTRODUCTION

Les infections fongiques et en particulier celles des levures, ont augmenté considérablement au cours de ces dix dernières années. Les levures sont des organismes unicellulaires qui possèdent des caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques très proches de celles des bactéries. Ces organismes sont pathogènes pour l'homme, les animaux et les plantes. Les levures sont responsables de nombreuses infections humaines (candidose, aspergillose, cryptococcose, etc.). Les levures sont également responsables de nombreuses infections animales (candidose, aspergillose, cryptococcose, etc.). Les levures sont également responsables de nombreuses infections végétales (candidose, aspergillose, cryptococcose, etc.). Les levures sont également responsables de nombreuses infections humaines (candidose, aspergillose, cryptococcose, etc.). Les levures sont également responsables de nombreuses infections animales (candidose, aspergillose, cryptococcose, etc.). Les levures sont également responsables de nombreuses infections végétales (candidose, aspergillose, cryptococcose, etc.).

3 - PRINCIPES

La méthode CANDIFAST est basée sur :

- la sensibilité ou non de la souche à l'action de visualisée par le virage au jaune ou au jaune-orangé de l'indicateur coloré du à l'acidification du milieu.
- la mise en évidence d'une activité résistante qui alcalinise le milieu et fait virer l'indicateur coloré du à l'acidification du milieu.
- la détermination de la résistance des levures aux antifongiques (test de sensibilité) par la présence ou l'absence de la croissance des levures sur un chevron de couleur du milieu.
- la fermentation du glucose par les levures entraîne une acidification du milieu qui fait virer le rouge de phénol présent dans le milieu au jaune ou au jaune-orangé.
- l'hyponésie de l'urée par les levures urées positive libère de l'ammoniaque qui alcalinise le milieu et fait virer le rouge de phénol au rose fuchsia.

4 - REACTIFS

Contenants :

	Quantité
CANDIFAST	44008
CANDIFAST ES TWIN	44030
R1 : flacon de Réactif 1	8
R2 : flacon de Réactif 2	10
TC : flacon de contrôle de turbidité	8
	30
	30
	1
	1

Description :

CANDIFAST : Galière 20 puits prête-à-l'emploi

Chaque galière permet de tester un échantillon (identification + test de résistance)

Série pour l'identification

	Le puits 1 (contient de l'actidione (ACT)), du glucose et du rouge de phénol	Le puits 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 (contient de l'actidione (ACT), du glucose et du rouge de phénol)	Le puits 21 (contient de l'actidione (ACT), du glucose et du rouge de phénol)	Le puits 22 (contient de l'actidione (ACT), du glucose et du rouge de phénol)	Le puits 23 (contient de l'actidione (ACT), du glucose et du rouge de phénol)	Le puits 24 (contient de l'actidione (ACT), du glucose et du rouge de phénol)	Le puits 25 (contient de l'actidione (ACT), du glucose et du rouge de phénol)	Le puits 26 (contient de l'actidione (ACT), du glucose et du rouge de phénol)	Le puits 27 (contient de l'actidione (ACT), du glucose et du rouge de phénol)	Le puits 28 (contient de l'actidione (ACT), du glucose et du rouge de phénol)	Le puits 29 (contient de l'actidione (ACT), du glucose et du rouge de phénol)	Le puits 30 (contient de l'actidione (ACT), du glucose et du rouge de phénol)
R1												
R2												
TC												

CANDIFAST ES TWIN : Galière 2x10 puits prête-à-l'emploi

Chaque série de puits correspondant au test de résistance de la galière CANDIFAST.

Chaque galière permet de tester deux échantillons (tests de sensibilité et de résistance)

R1 - Flacon de 4 ml de milieu semi-gelée tamponné pour l'identification et la dilution.

Extrait de boeuf 1,3 g/L, Peptone de caséine 1,5 g/L, Extrait de levure 0,8 g/L, Acides aminés, vitamines, minéraux 5,75 g/L.

Urée 20 g/L, Agar 0,52 g/L, Antibiotiques 1,12 g/L, pH : 6,05 ± 0,1.

R2 - Flacon de 2 ml de milieu liquide pour le test de résistance.

Extrait de boeuf 1,3 g/L, Peptone de caséine 1,5 g/L, Antibiotiques 1,16 g/L, pH : 7,3 ± 0,1.

TC - Flacon de 4 ml de sulfate de baryum pour le contrôle de dilution.

5 - PRECAUTIONS

- Les réactifs de ce coffret sont destinés à usage *in vitro* uniquement et doivent être manipulés par des personnes habilitées.
- Les prélevements et les résultats obtenus sont potentiellement inégaux, ils doivent être manipulés avec les précautions d'usage en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation pour ce type de produit.
- Les réactifs contenant des matières premières d'origine animale doivent être manipulés avec les précautions d'usage.
- Ne pas utiliser les réactifs au delà de la date de péremption.
- Ne pas utiliser les réactifs endommagés ou mal conservés avant utilisation.

6 - RECUEIL DES ECHANTILLONS

L'identification et le test de résistance doivent être réalisés à partir de colonies :

- levures (24 à 48 heures)
- pathogènes isolées à température ambiante ou à 37 °C sur un milieu gélosé, de préférence en boîte de Pétri. Il est recommandé d'effectuer l'isolement sur des milieux spécifiques des levures (3).

7 - CONSERVATION DES REACTIFS

Les réactifs conservés à 2-8 °C, sous leur état d'origine sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur les étiquettes. La demi-galière CANDIFAST ES TWIN non utilisée, peut être conservée 7 jours à 2-8 °C dans son emballage d'origine hermétiquement fermé et avec le sachet désyétrant.

8 - REACTIF ET MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNIS

- Huile de paraffine
- Eluve à 37 °C
- Recipient pour déchets contaminés

9 - MODE OPERATOIRE

Amener les réactifs à température ambiante (18-25 °C) avant emploi.

Puis, 1. Préparation de l'inoculum

1. Homogénéiser la souche de levure dans une cage ou d'une pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1. Homogénéiser la souche de levure dans une cage ou d'une pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1. Homogénéiser la souche de levure dans une cage ou d'une pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

2. Par rapport au flacon TC de contrôle de turbidité

Ajuster l'opacité du Réactif 1 en fonction de celle du flacon TC en s'aidant des traits noirs des étiquettes de flacon.

Si le Réactif 1 est plus clair (inoculum insuffisant), réensemencer le flacon jusqu'à l'obtention d'une opacité égale à celle du flacon TC.

Si le Réactif 1 est plus trouble (inoculum trop riche), diluer à l'aide d'un nouveau flacon de Réactif 1 jusqu'à obtention d'une opacité correcte.

3. A l'aide d'un dentoniroie

Verifier à l'aide d'un dentoniroie que la turbidité du Réactif 1 ensemencé est égale à 1 Mac Farland. Si nécessaire opérer comme indiqué précédemment pour ajuster le trouble.

4. Numération en cellule de Malassez

Il est possible de standardiser l'inoculum en effectuant une numération des levures en cellule de Malassez. On doit obtenir une solution de 2500 à 5000 levures par mm³.

5. Inoculation de la galière CANDIFAST

Série pour l'identification

Identifier la galière. Soulever l'épingle adhésive, puis distribuer dans chacun des 8 premiers puits :

- 100 µL de R1 ensemencé et standardisé
- 2 gouttes d'huile de paraffine.

Recouvrir la série de puits avec l'épingle adhésive.

Dans un premier temps inoculer le Réactif 2 par 100 µL de Réactif 1 ensemencé et standardisé (cf. § 9.1). Puis dans un deuxième temps soulever l'épingle adhésive et distribuer dans chacun des 8 premiers puits :

- 100 µL de R2 préalablement ensemencé
- 2 gouttes d'huile de paraffine.

Recouvrir la série de puits avec l'épingle adhésive.

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

2 puits vides

• Diagnostic différentiel

Les genres *Cryptococcus*, *Trichosporon* et *Rhodotorula* peuvent être différenciés par des caractères morphologiques.

- *Rhodotorula* donne des colonies de couleur rouge saumon bien caractéristiques sur géloses Sabouraud.

- *Cryptococcus* possède une capsule polysaccharidique mise en évidence par la cobaltation à l'encre de chine diluée au 1/5. Il donne sur géloses Sabouraud des colonies de couleur rouge saumon moins intense que les colonies de *Rhodotorula*.

- *Candida* présente un pseudomycélium sur milieu PDB.

- *Trichosporon* présente des hyphes filamenteuses, *Saccharomyces cerevisiae* est le principal espèce pathogène rencontrée chez l'homme.

- Des souches de *Saccharomyces boulardii* ou de *Saccharomyces cerevisiae* peuvent être isolées de patient sous traitement à base de levures.

• Un examen microscopique permet de différencier les dix espèces :

- *S. cerevisiae* sont des levures globuleuses de grande taille.

- *S. boulardii* sont des levures ovales à allongées de plus petite taille.

• Avec la galière CANDIFAST certaines souches *Cryptococcus* peuvent pousser en présence d'actidione.

Puits 2, 8, 14, 20, 26, 32

Un changement de couleur du milieu au jaune ou au jaune orangé ou au fuchsia traduit la capacité de la souche testée à se développer à la concentration testée de l'antifongique. Dans ce cas, la souche est rendue résistante.

Par contre, la couleur orange du milieu indique que la souche a été inhibée par l'antifongique contenu dans la coupe.

11 - CONTRÔLE DE QUALITE

Afin de valider la standardisation de la méthode, il est recommandé de réaliser un contrôle de qualité de façon périodique en utilisant les souches de référence : *C. albicans* ATCC 90029 et *C. parapsilosis* ATCC 22019.

Source

Inoculation

ACT

GLU

GLC

TRF

MAL

CEL

RAF

LAC

C+

AB

N

 ECT | ECZ | KTZ | MCZ | MCZ | FCZ |

12 - CAUSES D'ERREURS

Préparation d'un inoculum trop riche ou trop faible.

Lecture de la galière à l'aveugle ou de la coupe de couleur dans le puits de contrôle de croissance.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

Le puits de contrôle de croissance doit être lu à l'aide d'un pipette Pasteur bouchée. Puis la décharger dans un flacon de Réactif 1.

CANDIFAST®

Identification of yeasts and antifungal resistance test 8 tests (Cat. N°44008) 30 tests (Cat. N°44030)

CANDIFAST® ES TWIN

Antifungal resistance test for yeasts
30 tests (Cat. N°44130)



EN-2009-03

1 - INTENDED USE
The CANDIFAST kit allows the identification of the main human pathogenic yeasts as well as the testing of their resistance to various antifungal agents.

The CANDIFAST ES Twin kit is intended for testing the resistance of yeasts to various antifungal agents.

2 - INTRODUCTION

Fungal infections and especially those caused by yeasts have significantly increased over the last ten years (5). Yeasts are opportunistic agents. Most of them are saprophytes, but they can become pathogenic when the conditions in the host become favourable. These conditions are mainly the physiological factors (newborn babies, elderly people, pregnant women), the local factors (catarrhs, meatations), the pathological factors (cancer, immune deficiency, metabolic disorders...), the therapy-related factors (antibiotics, birth control pills, immuno-suppressive agents, ionising radiation, surgery...). The clinical features caused by these yeasts are quite varied: cutaneous conditions (intertrigo, onych...), mucocutaneous disorders (oral candidiasis, otomycosis, vaginitis...), visceral and septicemic conditions.

The increase in the number of available antifungal agents and the appearance of treatment-resistant mycoses justify testing the response of the yeasts in the presence of antifungal agents (1, 2).

3 - PRINCIPLE

The identification of the yeast is based on :

- the susceptibility of the strain being tested to acidione which is visualized by a colour change of the indicator either to yellow, to orange-yellow or to fuschia;
- the fermentation of seven sugars which is visualized by a colour change of the indicator to yellow or to orange-yellow due to the acidification of the medium;
- the demonstration of urease activity, which produces an alkalization of the medium, resulting in the indicator changing to a fuschia colour.

The determination of the resistance of yeasts to antifungal agents is based on the growth or the absence of growth of these yeasts in the presence of various antifungal agents. Growth is demonstrated by a colour change of the medium :

- the fermentation of glucose by the yeasts leads to acidification of the phenol red containing medium, making it change to a yellow or to an orange-yellow colour;
- the hydrolysis of urea by the urasee-positive yeasts releases ammonia which alkalizes the phenol red containing medium, making it change to a fuschia-pink colour.

4 - REAGENTS

Packaging

Reagent	Quantity
CANDIFAST	#44008
CANDIFAST ES Twin	#44030
R1 : Vial of Reagent 1	8
R2 : Vial of Reagent 2	10
TC : Vial of Turbidity Control	35
	8
	30
	1

Description

CANDIFAST : 20-well tray, ready for use

Each tray allows the testing of one sample (identification + resistance test)

Row for Identification

Well 1 contains phenol red, acidione (ACT) and glucose
Wells 2 to 8 contain phenol red and a different sugar as follows:

well 2 (GLU) : glucose	well 3 (GAL) : galactose	well 4 (TRE) : trehalose	well 5 (MAL) : maltose	well 6 (CEL) : cellobiose	well 7 (RAF) : raffinose	well 8 (LAC) : lactose
well 9 (MUC) : mucicose (20 µg/ml)	well 10 (INU) : inosine (20 µg/ml)	well 11 (ECI) : thiosucrose (05 µg/ml)	well 12 (ECZ) : econazole (16 µg/ml)	well 13 (MCO) : micorazole (10 µg/ml)	well 14 (FCZ) : fluconazole (16 µg/ml)	well 15 (FCZ) : fluconazole (16 µg/ml)
well 16 (FCZ) : fluconazole (16 µg/ml)	well 17 (FCZ) : fluconazole (16 µg/ml)	well 18 (FCZ) : fluconazole (16 µg/ml)	well 19 (FCZ) : fluconazole (16 µg/ml)	well 20 (FCZ) : fluconazole (16 µg/ml)	well 21 (FCZ) : fluconazole (16 µg/ml)	well 22 (FCZ) : fluconazole (16 µg/ml)

CANDIFAST ES Twin : 2x10-well tray, ready for use

The two rows of wells are identical to the resistance test row of the CANDIFAST tray.

Each tray allows the testing of two samples (resistance test only).

R1 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R2 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R3 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R4 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R5 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R6 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R7 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R8 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R9 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R10 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R11 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R12 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R13 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R14 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R15 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R16 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R17 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R18 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R19 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R20 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R21 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R22 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R23 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R24 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R25 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R26 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R27 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R28 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R29 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.
R30 : 4 mL vial of buffered agar medium for dilution and identification.

BP : 2 mL vial of YNB yeast nitrogen base medium containing urea and phenol red for resistance test
Bref extract 1.3 g/L, Green peptone 1.8 g/L, Yeast extract 0.8 g/L, Amino acids, vitamins, minerals 8.75 g/L, Urea 20 g/L, Glucose 8.5 g/L, Phenol red 0.055 g/L, Antibiotics 1.16 g/L, pH : 7.3 ± 0.1.

TC : 4 mL vial of Barium sulphate solution.

5 - PRECAUTIONS

- The reagents are intended solely for *in vitro* use and must be handled by authorized personnel.
- The samples and inoculated reagents are potentially infectious; they must be handled with caution, in observance of hygiene rules and the current regulations for this type of product, in the country of use.
- Reagents containing raw materials of animal origin must be handled with caution.
- Do not use reagents after the expiry date.
- Do not use reagents that have been damaged or that have been poorly conserved before use.

6 - SPECIMEN COLLECTION

The colonies used for performing the identification and the resistance test should be young (24 to 48 hours old) and perfectly isolated at room temperature or at 37 °C on an agar medium, preferably in a Petri dish. It is recommended that isolation be made on media that are specific for yeast (3).

7 - REAGENT STOCKAGE

The kit and CANDIFAST ES Twin may be stored at 2-8 °C in their original state are stable until the expiry date indicated on the box. One half of a CANDIFAST ES Twin may be stored at 2 to 8 °C for 4 days in its original packaging, sealed with the desiccant.

8 - REAGENT AND MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Petrifilm oil
- Sterile pipettes
- Container for contaminated waste

9 - PROCEDURE

9.1. Preparation of the inoculum

Pick up an isolated colony with a wire loop or an occluded Pasteur pipette. Inoculate a vial of Reagent 1 with the colony. Mix well. The standardization of the inoculum can be performed in three different ways:

• With Respect to the Turbidity Control Vial

Adjust the opacity of the inoculated Reagent 1 to that of the Turbidity Control with the aid of the black lines printed on the vial labels.

If Reagent 1 is lighter (insufficient inoculum), inoculate the vial further until the opacity obtained equals that of the Turbidity Control vial.

If Reagent 1 is more turbid (inoculum too rich), dilute it with Reagent 1 from another freshly opened vial until the correct turbidity is obtained.

Verify that the turbidity of the inoculated Reagent 1 is equal to 1 MacFarland. If necessary, proceed as above to adjust the turbidity.

• Enumeration in Maltose Cell

It is possible to standardize the inoculum by counting the yeasts in a Maltose cell. A solution of 2,500 to 3,500 yeasts per mm³ must be obtained.

9.2a. Inoculation of CANDIFAST tray

Mark the test-tray to identify the specimen being tested. Lift the adhesive tape and dispense into each of the first 8 wells as follows:

- 100 µL of inoculated standardized R1
- 2 drops of Parafilm oil

Reseal the test-tray with the adhesive tape.

Resistance test row
First, inoculate Reagent 2 with 100 µL of inoculated standardized Reagent 1 (see § 9.1), then, lift the adhesive tape and dispense into each of the first 8 wells as follows:

- 100 µL of inoculated R2
- 2 drops of Parafilm oil

Reseal the test-tray with the adhesive tape.

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

2 empty wells ZC1 ZC2 ZC3 ZC4 ZC5 ZC6 ZC7 ZC8 ZC9 ZC10 ZC11 ZC12 ZC13 ZC14 ZC15 ZC16 ZC17 ZC18 ZC19 ZC20 ZC21 ZC22 ZC23 ZC24 ZC25 ZC26 ZC27 ZC28 ZC29 ZC30

• Differential Diagnosis

Cryptococcus, Microsporum and Rhodotorula species may be differentiated by morphological examination.

- Rhodotorula species are characterised by distinctive orange-red colonies when grown on Sabouraud's dextrose agar.

- Some strains of Cryptococcus species may also produce a black pigmentation. Therefore, Cryptococcus species should be examined for the presence of a capsule by an India ink preparation.

- Microsporum species produce pseudophyphae when grown on PDA agar medium.

- Some Cryptococcus species, Saccharomyces cerevisiae is the main human pathogenic species.

- Strains of Saccharomyces boulardii or Saccharomyces cerevisiae can be isolated from patients undergoing a treatment based on yeast.

• A microscopic examination can differentiate the two species:

- S. cerevisiae are large globular yeasts.
- S. boulardii are smaller in size, egg-shaped or elongated.

• With the CANDIFAST test some strains of Cryptococcus may grow in presence of acidione.

10.2 Resistance test row

Labels 12 to 15 are ECZ.

Labels 16 to 19 are ECZ.

Labels 20 to 23 are ECZ.

Labels 24 to 27 are ECZ.

Labels 28 to 31 are ECZ.

Labels 32 to 35 are ECZ.

Labels 36 to 39 are ECZ.

Labels 40 to 43 are ECZ.

Labels 44 to 47 are ECZ.

Labels 48 to 51 are ECZ.

Labels 52 to 55 are ECZ.

Labels 56 to 59 are ECZ.

Labels 60 to 63 are ECZ.

Labels 64 to 67 are ECZ.

Labels 68 to 71 are ECZ.

Labels 72 to 75 are ECZ.

Labels 76 to 79 are ECZ.

Labels 80 to 83 are ECZ.

Labels 84 to 87 are ECZ.

Labels 88 to 91 are ECZ.

Labels 92 to 95 are ECZ.

Labels 96 to 99 are ECZ.

Labels 100 to 103 are ECZ.

Labels 104 to 107 are ECZ.

Labels 108 to 111 are ECZ.

Labels 112 to 115 are ECZ.

Labels 116 to 119 are ECZ.

Labels 120 to 123 are ECZ.

Labels 124 to 127 are ECZ.

Labels 128 to 131 are ECZ.

Labels 132 to 135 are ECZ.

Labels 136 to 139 are ECZ.

Labels 140 to 143 are ECZ.

Labels 144 to 147 are ECZ.

Labels 148 to 151 are ECZ.

Labels 152 to 155 are ECZ.

Labels 156 to 159 are ECZ.

Labels 160 to 163 are ECZ.

CANDIFAST® is a trademark of Eutecth MICROBIO

ELITECH MICROBIO

Parc d'activités du Plateau

19, allée d'Athènes

83870 SINGES

FRANCE

Tél. : 33 (0)4 94 88 55 00

Fax : 33 (0)4 94 88 55 22



CANDIFAST®

Identifikation und Resistenztestung von Hefepilzen 8 Tests (Ref. 44008) 30 Tests (Ref. 44030)

CANDIFAST® ES TWIN Resistenztestung von Hefepilzen 30 Tests (Ref. 44130)



DE-2006-09

1-TESTSYSTEME

Das CANDIFAST erlaubt die Identifikation der wichtigsten medizinisch relevanten Hefepilze und simuliert eine Resistenztestung mit üblicher Antimykotika. Der CANDIFAST ES TWIN dient ausschließlich zur Resistenztestung gegen wichtige Antimykotika.

2-ENTWERTUNG

Die Hauptkeim der Pilzinfektionen, besonders mit Hefepilzen, hat in Lauf der letzten zehn Jahren deutlich zugenommen (9). Hefepilze sind opportunistische Erreger. Die meisten sind Saprophyten, können aber pathogen werden wenn beim Wirt entsprechende Bedingungen vorerrschen.
Ursachen können sein: althypothetische Faktoren vor allem bei Neugeborenen, älteren Personen und schwangeren Frauen; b) lokale Ursachen: leichte Hauterkrankungen, dermatologische Ursachen bei immunsupprimierten Personen mit schweren Grunderkrankungen oder Stoffwechselstörungen; c) diätetische Faktoren: Antibiotikatherapien, Kontrazeptiva, Immunsuppressiva, intensiver Strahlungs- oder chirurgische Eingriffe... Durch Hefepilze verursachte Infektionen können in allen Organen auftreten (Haut, Haar- und Nagelpilzmykosen (fingerring, Onychia...), Infektionen der Schleimhäute (Mund-Speiserhöhen-, Dickdarm-Infektionen, Vaginitis,...), Infektion der inneren Organe und Sepsis. Aufgrund des vermehrten Vorkommens von resistenten Pilzen ist eine Resistenztestung zu empfehlen um gezielt neue Antimykotika einsetzen zu können (1, 2).

3-PRINZIP

Die Identifikation der Hefe beruht auf:
- Empfindlichkeit oder Unempfindlichkeit auf Aceticum, wird durch die Umfärbung des Farbindikatoren auf gelb, gelb-orange oder auf rotlich (fuchsin) sichtbar. • durch den Abbau von sieben Glukosen sieht der pH-Wert, was ebenfalls zu einer Umfärbung des Farbindikatoren auf gelb oder gelb-orange führt. • Durch die Harnstoff Aktivität wird das Medium alkalisch und verfärbt sich rotlich (fuchsin).
Die Resistenztestung der Hefen beruht auf dem Wachstum in Gegenwart von Antimykotika. Dieses Wachstum wird durch einen Farbumschlag des Mediums sichtbar. • der Abbau der Glukose durch die Hefen führt zu einer Ansäuerung des Mediums und damit zu einer Umfärbung des im Medium vorhandenen Phenol-Rotes auf gelb oder gelb-orange. • die Hydrolyse des Harnstoffes durch unsere positive Hefepilze setzt Ammoniak frei, der das Medium alkalisiert und zu einer rosa-rotlichen Umfärbung führt.

4- REAGENZIEN

Bestandteile Reagenzien

	#44008	Menge	#44130
CANDIFAST			
CANDIFAST ES TWIN			
R1 : Reagenzfläschchen 1	8	30	15
R2 : Reagenzfläschchen 2	10	35	35
R3 : Kontrolle zur Titration	8	30	30
Beschreibung	1	1	1

CANDIFAST: Gedrahtete Platte mit 20 Vertiefungen.
Mit jeder Platte wird eine Probe geliefert (Identifikation und Resistenztestung).

Serie für die Identifikation

Die Vertiefung 1 enthält Acidum (ACT), Glukose und Phenol-Rot.
Die Vertiefungen 2 bis 8 enthalten verschiedene Zucker und Phenol-Rot.
Vertiefung 2: (GLU) Glukose
Vertiefung 3: (NUT) Nystatin (20 µg/ml)
Vertiefung 4: (FOT) Fluconazol (50 µg/ml)
Vertiefung 5: (TET) Tetraose
Vertiefung 6: (MAL) Maltose
Vertiefung 7: (CEL) Cellulose
Vertiefung 8: (RAH) Rhamnose
Vertiefung 9: (LAC) Laktose
Die Vertiefungen 9 und 10 sind leer.

CANDIFAST ES TWIN: Gedrahtete Platte mit 2 x 10 Vertiefungen. Die zwei Reihen entsprechen dem gleichen Aufbau zur Resistenztestung wie beim CANDIFAST.

Jede Platte ermöglicht daher zwei Plateintestungen zu testen (nur Resistenztestung).
R1: Fläschchen mit 2 ml, zwei Plateintestungen zum Testen von Verdäuchten und Identifizieren. Beietrakt 1,3 g/L, Kasein-Peptone 1,8 g/L, Hefekontakt 0,8 g/L, Ammoniumsalz, Vitamine, Minerale 5,75 g/L, Harnstoff 20 g/L, Agar 0,52 g/L, Antibiotika 1,12 g/L, pH-Wert 6,05 ± 0,1.

R2: Fläschchen mit 2 ml, flüssigen Medium zur Resistenztestung. Beietrakt 1,3 g/L, Kasein-Peptone 1,8 g/L, Hefekontakt 0,8 g/L, Ammoniumsalz, Vitamine, Minerale 5,75 g/L, Harnstoff 20 g/L, Phenol-Rot 0,052 g/L, Antibiotika 1,16 g/L, pH-Wert 7,3 ± 0,1.
R3: Fläschchen mit 4 ml, Barium-Sulfat.

5- VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die Reagenzien dieses Kits sind einzig für in vitro Gebrauch bestimmt und müssen von benachteiligten Personen verwendet werden.
- Die Proben und die empfangenen Reagenzien sind möglicherweise infektiös, sie müssen mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen behandelt werden mit Rücksicht auf die gesetzlichen Gegebenheiten, die im jeweiligen Land für diese Produkte vorgeschrieben sind.
- Die Reagenzien enthalten Rohstoffe mit tierischer Herkunft und müssen daher entsprechend behandelt werden.
- Abgetretene Reagenzien müssen entsorgt werden.
- Beschädigte oder falsch gelagerte Reagenzien dürfen nicht mehr verwendet werden.

6- SAMMLUNG DER PROBEENTNAHMEN

Die Identifizierung und der Resistenztestung erfolgt von Kulturen der:
- 24 bis 48 Stunden
- bei Zimmertemperatur oder bei 37 °C, auf einem festen Nährboden in Petri-Schalen kultiviert wurden. Es wird empfohlen, die Isolierung auf speziellen Medien für Hefen durchzuführen (3).

7- AUFBEWAHRUNG DER REAGENZIEN

Die Reagenzien werden bei 2-8 °C in der Originalverpackung aufbewahrt und sind bis zum Verfallsdatum (am Kit angegeben) stabil. Die nicht benötigte Hälfte der CANDIFAST ES TWIN Platte kann 7 Tage lang bei 2-8 °C in der fest verschlossenen Originalverpackung mit einem Trockenmittel aufbewahrt werden.

8- FERTIGSTELLUNG DER REAGENZIEN UND HILFSMITTEL

- Penicillin
- Streptococcus
- Brucella, 37 °C
- Reaktor für infektiöse Abfälle

9- METHODE

Die Reagenzien müssen vor deren Verwendung auf Raumtemperatur (18-25 °C) gebracht werden.

9.1. Vorbereitung des Inokulums

Mit Hilfe einer Inokula, kann eine Einzelkolonie entnommen und das Fläschchen 1 inokuliert und gut durchmischt. Die Standardisierung des Inokulums kann mit verschiedenen Methoden durchgeführt werden:

• Vergleich zum TC Fläschchen, Titrationsschritte

Die Titration des beimpften Reagenz 1 an das TC Fläschchens anpassen. Zum Vergleich dienen die schwarzen Striche auf dem Etikett des TC Fläschchens. Wenn das Reagenz 1 klarer ist (zuwenig Inokulum), muss noch Kulturmaterial hinzugefügt werden. Wenn das Reagenz 1 trüber ist (zuviel Inokulum), kann mit einem neuen Reagenzfläschchen 1 die Titration durch entsprechenden Verdünnen eingestellt werden.

• Mit Hilfe eines Turbidimeters, prüfen ob die Titration des beimpften Reagenz 1, gleich 1 Mac Farland ist. Wenn nötig, die Titration entsprechend anpassen.

• Aufzählung in Malasse-Zellen

Es ist möglich, das Inokulum zu standardisieren, indem eine Zählung der Hefen in Malasse-Zellen durchgeführt wird. Die Lösung muss ein Zählzeit von 2500 bis 3500 Hefen pro mm² enthalten.

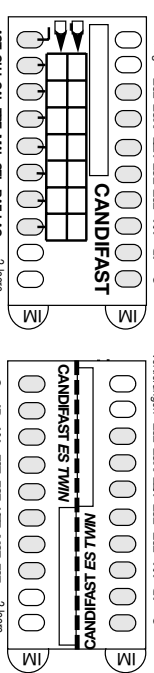
9.2a. Benutzung der CANDIFAST Platte

Vertiefungsserie für die Identifizierung

Die Kiebeln bis abziehen, das alle Vertiefungen beimpft werden können jedoch noch am Rand der Platte kept. Verteilen Sie in jede der 8 ersten Vertiefungen:
- 100 µl beimpfendes und standardisiertes R1
- 2 inerten Parallel.
Die Platte mit der Kiebeln wieder verschließen.

Serie für die Resistenztestung

Die Platte mit der Kiebeln wieder verschließen.
2 Reagenz R2, 2 Reagenz R3, 10 µl von beimpften und standardisierten Reagenz 1 beimpfen (cf § 9.1). Die Kiebeln abziehen und in jeder der 8 Vertiefungen wie folgt zugeben:
- 100 µl von R2 (mit R1 beimpft)
- 2 inerten von Parallel.
Die Platte mit der Kiebeln wieder verschließen.



9.3. Inkubation

Die Platte 24 Stunden bei 37 °C-Stunden incubieren, je nach Bedarf und je nach Stamm, die Inkubation bis 48 Stunden oder sogar bis 72 Stunden verlängern.
Die Auswertung erfolgt sobald die Kontrollvertiefung positiv wird.

10- ABLESEN UND INTERPRETATION DER PLATTE

Die gesamte Platte wird als ausgewertet, wenn in der Kontrollvertiefung (C-; Vertiefung 1 für den Resistenztest), eine Farbveränderung zu sehen ist. Umfärbung auf gelb, gelb-orange oder fuchsin (für unsere positive Spezies)
10.1 Schema für die Identifizierung

Vertiefung 1 (ACT): Als positiv gilt, wenn in der Vertiefung ACT eine Farbveränderung des Mediums beobachtet wird.

- Eine Umfärbung auf gelb, gelb-orange oder fuchsin

mit einer Farbveränderung auf so ist das als negativ zu werten.
Vertiefung 2 bis 8 (GLU, NUT, FOT, TET, MAL, CEL, RAH): Als positiv gilt, wenn in einer der Vertiefungen eine Farbveränderung im Medium beobachtet wird.

- Farbveränderung nach gelb, gelb-orange oder fuchsin

Trifft keine Farbveränderung auf so ist das als negativ zu werten.
Die Identifizierung der Hefen wird mit Hilfe der Auswertung der Platte und der Morphologie der Kolonien durchgeführt. Zur Interpretation dient die unten angelegte Tabelle, oder die Belege im Kit. Auf der Kiebeln befindet sich ebenfalls ein Auswertungsschema, die Vertiefung (ACT) ablesen.
Das Schema wird auf der Kiebeln am Schrittpunkt von Addition (positive oder negative Panel) und dem letzten positiven Zucker abgelesen.

	ACT	GLU	GAL	TRE	MAL	CEL	RAH	LAC
Hefe								
Candida albicans	+	+	+	+	+	+	+	+
Candida glabrata (non-stellatoidea)	+	+	+	+	+	+	+	+
Candida glabrata	+	+	+	+	+	+	+	+
Candida kefyr	+	+	+	+	+	+	+	+
Candida krusei	+	+	+	+	+	+	+	+
Candida lusitanae	+	+	+	+	+	+	+	+
Candida parapsilosis	+	+	+	+	+	+	+	+
Candida tropicalis	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharomyces	+	+	+	+	+	+	+	+
Arten Cryptococcus oder Trichosporon oder Rhodotulula	+	+	+	+	+	+	+	+

• Zusatzliche Diagnostik

- Die Arten Cryptococcus, Trichosporon und Rhodotulula können anhand der morphologischen Charaktere unterschieden werden.
- Rhodotulula ergibt auf Sabouraud-Agar sehr charakteristische kettenförmige Kolonien.
- Cryptococcus besitzt eine Polysaccharid-Kapsel die mit 3-fach vergrößerter Linse gefärbt werden kann. Auf Sabouraud-Agar sind die Kolonien keulenförmig, jedoch weniger deutlich, wie die Rhodotulula-Kolonien.
- Rhodotulula zeigt eine Pseudomycelium auf FOT-Medium.
- Bei der Gattung Saccharomyces ist Saccharomyces cerevisiae die häufigste humanpathogene Art.
- Stämme von Saccharomyces boulardii oder Saccharomyces cerevisiae bilden auf Petriplatten, die mit einer auf Hefe-Thymale behandelten Beimpfung, isoliert werden.
- Eine mikroskopische Analyse ermöglicht, die zwei Arten zu unterscheiden: - S. cerevisiae sind große kugelförmige Hefen. - S. boulardii sind kleinere eiförmig bis lang gezeigte, ovale Hefen.
- In der CANDIFAST Platte können bestimmte Cryptococcus Stämme in Anwesenheit von Aceticum wachsen.

10.2 Schema für den Resistenztest

Vertiefungen 2 bis 8 (GLU bis ECZ)

Eine Farbveränderung des Mediums auf gelb, gelb-orange oder fuchsin weist auf ein Wachstum hin und somit besteht eine Resistenz gegen die jeweilige Konzentration des Antimykotikums.
Hingegen zeigt die Rot-Orange Farbe des Mediums an, dass der Stamm durch das enthaltene Antimykotikum getötet worden ist.

11- QUALITÄTSKONTROLLE

Um die Standardisierung der Methode zu prüfen, wird empfohlen eine Qualitätskontrolle regelmäßig durchzuführen. Dazu können die Referenz-Stämme, Candida albicans ATCC 90028 und Candida parapsilosis ATCC 22019 verwendet werden.

Stamm	Erwartete Resultate															
Inkubation	ACT	GLU	GAL	TRE	MAL	CEL	RAH	LAC	C+	AB	NY	FOT	ECZ	KTZ	MCZ	FCZ
24 Stunden	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
48 Stunden	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

12- TROUBLESHOOTING

- Die Titration des Inokulums schlecht eingestellt
- Inokulums enthält eine Mischung oder Kolonien die älter als 48 Stunden sind.
- Ablesen der Platte bevor es zu einer Farbveränderung in der Wachstumskontrollvertiefung gekommen ist.
- Ablesen der Platte 48 Stunden nach der Farbveränderung in der Wachstumskontrollvertiefung. Allgemein, die Nichtbeachtung der Empfehlungen der Packungsbeilage.

13- GRENZEN DER METHODE

- Diese in vitro Testmethode zur Bestimmung der Antimykotika-Resistenz, hat einen indikativen Wert auf die Interaktion der Antimykotika. Eine Beurteilung bei Behandlungen in vivo (24).
- Die CANDIFAST Methode wurde entwickelt, für die Identifizierung und der Resistenztestung von Stämmen die von Haut und Schleimhäut isoliert wurden, er wird also nicht für systemisch isolierte Pilzstämme empfohlen.
- Die CANDIFAST-Methode erlaubt keine Kategorisierung in sensibel- oder resistenz-resistent.
- Wärmeempfindliche Stämme, die bei 20 °C isoliert werden, wachsen bei 37 °C. In diesem Fall wachsen die Hefen nicht oder schlecht und die Identifizierung ebenso wie die Resistenztestung können nicht durchgeführt werden.
- Bei warmen Stämmen von denen es zu einer Fäulnisbildung während der Identifizierung und der Resistenztestung kommt, kann es zu einer Fäulnisbildung kommen, die die Identifizierung durch Umfärbung der Tabelle in Rot (oben) führt nicht möglich. Die Auswertung mittels Etiketts auf der Platte ist jedoch möglich.
- Bei manchen C. glabrata-Stämmen, ist die GAL-Vertiefung schwierig abzulesen. In diesem Fall ist eine Auswertung mittels Tabelle nicht möglich. Die Auswertung mittels Etiketts auf der Platte ist jedoch möglich.
- Bei der Interpretation der Resistenztestung darf die Titration nicht in Betracht gezogen werden da ein Schlier nach der Inkubation mit azidhaltigen Antimykotika auftreten kann.

14- LEISTUNGEN

Untersuchung nach dem Stammsammlung.

Die Untersuchung wurde mit 80 Stämmen (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 und 1 Trichosporon cutaneum) durchgeführt. 78 Stämme wurden durch die Ableitung, mit Hilfe von Etikett, richtig identifiziert, oder 97,5%ige Übereinstimmung zum RUNGUCHROM von ELITECH MICROBIO oder API 32C von Biorélex. Die Gesamt-Übereinstimmung des Resistenztests, durch Vergleich auf FUNGISTEST von Bioré und der ATB-Funkus von Biorélex, ist 67,4%.

Untersuchung auf klinische Stämme

Die Untersuchung wurde auf 100 frisch isolierte Stämme klinischer Proben durchgeführt (72 Candida albicans, 9 C. glabrata, 8 C. parapsilosis, 5 C. tropicalis, 3 C. krusei, 1 C. kefyr, 1 C. lusitanae und 1 Saccharomyces spp.). 86 Stämme wurden korrekt identifiziert, verglichen mit dem VITEK-System von Biorélex.
Die generelle Übereinstimmung des Resistenztestes, im Vergleich zum FUNGISTEST von Bioré und die ATB-Funkus von Biorélex, beträgt 85,4% (Stämme von Candida albicans, 86,7%, C. glabrata, 83,3% und 1 C. tropicalis).
Die Übereinstimmung des Resistenztestes, durch Vergleich auf FUNGISTEST von Bioré und der ATB-Funkus von Biorélex, ist 67,4%.

15- ENTSORGUNG

Der Abfall muss entsprechend der gesetzlichen Vorschriften für die jeweiligen Reagenzien entsorgt werden.

16- BILDERNACHWEIS

- 1. DUPONT B., 1987, Résistance de Candida aux antifongiques, Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Chap. 4, 23-26.
- 2. DUPUY-CAMET J., M.-E. BOUDOUINO, I. WENS, et C. TOURTE-SCHAEFFER, 1989, Intérêts et limites de l'antifongogramme, Rev. Fr. Lab., 197, 69-72.
- 3. GRILLLOT F., B. LEBEAU et L. SELBAMN., 1989, Isolement et identification des levures, données théoriques et perspectives, Rev. Fr. Lab., 197, 24-32.
- 4. PUGNIE H., J. WALTER et M. KREMER, 1989, Diagnostic et aspects épidémiologiques de 10 000 levures isolées en 8 ans, Rev. Fr. Lab., 197, 24-38.

CANDIFAST® ist ein Warenzeichen von ELITECH MICROBIO



ELITECH MICROBIO
Parc d'activités du Plateau
19, allée d'Antennes
83870 SINGES
FRANCE
Tél. : 33 (0)4 94 88 55 00
Fax : 33 (0)4 94 88 55 22

