

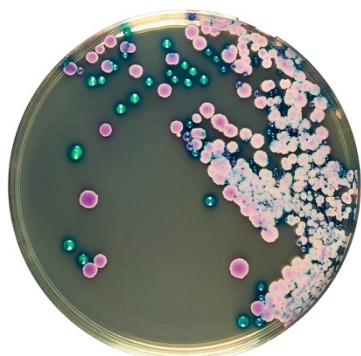


ANVÄNDNINGSPROCEDUR

ChromArt

CHROMOGENIC CANDIDA AGAR

Dehydrerat odlingsmedium



Chromogenic Candida Agar: r:
C. albicans (grönblå kolonier), *C. tropicalis* (blågrå
kolonier) och *C. krusei* (stora rosa-violetta kolonier)

1 – AVSEDD ANVÄNDNING

In vitro-diagnostik. Selektivt och kromogent medium för isolering av *Candida* spp. från kliniska prover och för differentiering av *Candida albicans*/*Candida dubliniensis*-gruppen från *Candida tropicalis* och andra arter av släktet *Candida*.

2 – TYPISK SAMMANSÄTTNING

(EFTER REKONSTITUERING MED 1 LITER VATTEN) *

Peptoner	10,30 g
Tillväxtfaktorer	11,70 g
Oorganiska salter	4,60 g
Kloramfenikol	0,50 g
Kromogen blandning	0,36 g
Agar	12,00 g

*Formeln kan justeras och/eller kompletteras för att uppfylla de erforderliga prestandakriterierna.

3 – METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

Jästinfektioner kräver snabb diagnos för att lämplig behandling med svampdödande läkemedel ska kunna påbörjas tidigt. Sedan 90-talet har framsteg gjorts inom laboriemetoder för diagnos av *Candida*-arter, särskilt *Candida albicans*, vilket har resulterat i snabbare och mer tillförlitlig identifiering.¹⁻³ En av dessa metoder var att införliva kromogena substrat direkt i isoleringsmediet. En gemensam princip för dessa medier är användningen av ett kromogent substrat för β -hexosaminidas, för att skilja *C. albicans*/*C. dubliniensis*-gruppen från andra jästsvampar, och ett andra kromogent substrat (vanligtvis för att detektera fosfatas eller β -glukosidas) för att ytterligare skilja mellan arter.⁴ Den största fördelen med sådana kromogena medier är deras förmåga att detektera blandade jästkulturer, eftersom olika arter ofta bildar kolonier med olika färger.

Chromogenic Candida Agar är ett kromogent och selektivt medium av "andra generationen" för isolering av *Candida* spp. från kliniska prover och för differentiering av kliniskt viktiga *Candida* spp.: *C. albicans* - *C. dubliniensis*-gruppen från *Candida tropicalis*, *Candida krusei* och andra *Candida* spp. Mediets selektivitet beror på närvaron av kloramfenikol som hämmar bakterietillväxt. Differentiering uppnås genom närvaron av två kromogena föreningar. Hydrolysen av substratet för detektering av β -hexosaminidasenzymet hos *C. albicans* och *C. dubliniensis* resulterar i frisättning av en olöslig kromofor som förblir inne i kolonierna och ger dem en typisk grönblå färg. Hydrolysen av det andra kromogena substratet resulterar i frisättning av en olöslig rosa kromofor och orienterar i identifieringen av andra arter: *Candida tropicalis* delar upp båda föreningarna med bildandet av blågrå kolonier, medan andra arter av släktet *Candida* endast hydrolyserar den andra kromogena föreningen och växer med kolonier med olika nyanser av rosa.

4 – ANVISNINGAR FÖR BEREDNING AV MEDIUM

Lös upp 39,5 g i 1 000 ml kallt renat vatten; varm till kokpunkt under frekvent omrörning tills det är helt upplöst. Autoklavera inte. Kyl till cirka 47–50 °C, blanda väl och håll i sterila petriskålar.

5 – FYSISKA EGENSKAPER

Utseende på dehydratiserat medium	beige, fint, homogent, fritt flytande pulver
Utseende på lösning och preparerade plattor	blekgult, klart
Slutligt pH vid 20–25 °C	6,0 ± 0,2

6 – MEDFÖLJANDE MATERIAL – FÖRPACKNING

Produkt	Typ	REF	Förpackning
Chromogenic Candida Agar	Dehydrerat medium	4080052	500 g (12,65 L)
Chromogenic Candida Agar	Dehydrerat medium	4080054	5 kg (126 L)

7 – MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE TILLHANDAHÅLLS

Vattenbad, inkubator och laboratorieutrustning efter behov, sterila öglor och svabbprover, petriskålar, Erlenmeyerkolvar, kompletterande odlingsmedier och reagenser för identifiering av kolonierna.

8 – PROVER

Chromogenic Candida Agar är avsedd för bakteriologisk bearbetning av icke-sterila kliniska prover såsom svabbprover från mun, hals, svalg och vagina. Samla in prover före antimikrobiell behandling om möjligt. God laboratoriesed för insamling, transport och förvaring av kliniska prover bör tillämpas.

9 – TESTFÖRFARANDE

Låt plattorna anta rumstemperatur och låt ytan på mediet torka.

Inokulera genom att rulla svabben över ett litet område av ytan vid kanten. Stryk sedan ut från detta inokulerade område för att få väl isolerade kolonier.

Inkubera de inokulerade plattorna under aeroba förhållanden vid 35–37 °C i 18–24 och 48 timmar.

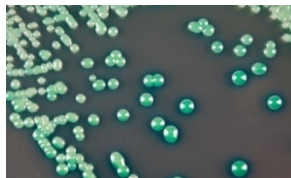




10 – AVLÄSNING OCH TOLKNING

Efter inkubation observerar du bakterietillväxten och noterar de specifika morfologiska och kromatiska egenskaperna hos isolerade kolonier. Nedan följer en kort tolkningsguide.

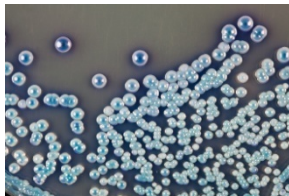
Brillanta grönblå kolonier: karakteristiska för *C.albicans* / *C.dubliniensis*. (*C.albicans* nedan)



Förstorade, platta rosa-röda eller violetta kolonier med en grov, fin struktur: karakteristiskt för *C.krusei*.



Gråblå kolonier med lila nyanser och/eller en violett gloria: karakteristiskt för *C.tropicalis*.



Vita eller rosa eller rosa-lila kolonier: karakteristiska för andra *Candida*-arter (*C.glabrata* nedan)



Candida kefir producerar violetteröda kolonier. *Candida parapsilosis*-komplexet producerar rosa, rosa-violetta kolonier. Grampositiva och gramnegativa bakterier hämmas nästan helt.

11 – ANVÄNDARENS KVALITETSKONTROLL

Alla tillverkade partier av produkterna släpps för försäljning efter att kvalitetskontrollen har utförts för att kontrollera att specifikationerna uppfylls. Slut användaren kan dock utföra sin egen kvalitetskontroll i enlighet med lokala tillämpliga bestämmelser, i enlighet med ackrediteringskrav och laboratoriets erfarenhet. Här nedan listas några teststammar som är användbara för kvalitetskontrollen.

KONTROLLSTAMMAR		INKUBATIONSTEMPERATUR/ T / ATM	FÖRVÄNTADE RESULTAT
<i>C.albicans</i>	ATCC 10231	35–37 °C / 44–48 timmar / A	god tillväxt, grönblå kolonier
<i>C.tropicalis</i>	NCPF 8841	35–37 °C / 44–48 timmar / A	god tillväxt, blågrå kolonier
<i>E.coli</i>	ATCC 25922	35–37 °C / 44–48 timmar / A	hämmad
<i>S.aureus</i>	ATCC 25923	35–37 °C / 44–48 timmar / A	hämmad

A: aerob inkubation; ATCC är ett varumärke som tillhör American Type Culture Collection; NCPF: Public Health England, National Collection of Pathogenic Fungi.

12 – PRESTANDAEGENSKAPER

Prestandakarakteristika för kromogen *Candida*-agar utvärderades av Andreoni *et al.*⁵ med 82 jäststammar isolerade från humana prover, identifierade med ett fenotypiskt system och bekräftade med en spektrometrisk metod och lagrade vid -80 °C, samt med 80 kliniska prover isolerade från respiratoriskt material, vaginala exsudat, urin och positiva blododlingar. Kromogen *Candida*-agar jämfördes med ett kromogent medium på marknaden. Slutsatserna var följande: för jäststammar isolerade från humana prover visade jämförelsen mellan de två medierna i allmänhet en bättre tillväxt, i termer av kolonidimension efter 24 och 48 timmar, på kromogen *Candida*-agar; kolonifärgen, i termer av ton och intensitet, var också tydligare på kromogen *Candida*, vilket möjliggjorde en bättre differentiering mellan arter med liknande färger. Resultaten bekräftade att kromogen *Candida*-agar i hög grad kan säkerställa den presumtiva identifieringen av arter som ofta isoleras kliniskt, vilket möjliggör en orientering för presumtiv identifiering av jästarter med lägre isoleringsfrekvens. Den snabba tillväxten och färgintensiteten garanterar dessutom en morfologisk och färgvärdering på kortare tid.

Innan produkten släpps ut på marknaden testas ett representativt urval av alla partier av dehydrerad kromogen *Candida* Agar REF 408005 med avseende på produktivitet, specificitet och selektivitet genom att resultaten jämförs med ett tidigare godkänt referensparti.

Produktivitet och specificitet utvärderas med hjälp av en semikvantitativ ekometrisk teknik med följande stammar: *C.albicans* ATCC 10231, *C.albicans* ATCC 2091, *C.dubliniensis* NCPF 3949, *C.intermedia* kliniskt isolat, *C.krusei* ATCC 6258, *C.parapsilosis* ATCC 22019, *C.stellatoidea* ATCC 11006, *C.tropicalis* NCPF 8841, *C.glabrata* kliniskt isolat. Efter inkubation vid 35–37 °C i 8-24 och 48 timmar utvärderas och registreras koloniernas tillväxt och kromatiska egenskaper. Alla *Candida*-arter utvecklar en god tillväxt med specifika kromatiska egenskaper (efter 48 timmars inkubation):

Selektiviteten utvärderas med modifierad Miles-Misra-ytdroppmetod genom att inokulera plattorna med lämpliga decimala utspädningar i saltlösning av en 0,5 McFarland-suspension av icke-målstammarna *P.aeruginosa* ATCC 27853 och *E.faecalis* ATCC 19433. Tillväxten av icke-målstammar hämmas helt.

13 – METODENS BEGRÄNSNINGAR

- C.dubliniensis* är β -hexosaminidaspositiv och växer med grönblå kolonier och kan därför inte skiljas från *C.albicans*.⁵
- Kromogen *Candida*-agar skiljer inte mellan *C.parapsilosis*, *C.orthopsilosis* och *C.metapsilosis*.⁵
- Den bästa färgskillnaden hos *Candida* spp. uppnås efter 48 timmars inkubation.⁵
- Candida* spp. andra än *C.albicans* / *C.dubliniensis* och *C.tropicalis* uppträder i olika rosa/grå/violetta färger, på grund av blandningen av naturlig pigmentering och de frigjorda kromoforena. Mikrobiologens erfarenhet kan hjälpa till att differentiera dessa arter efter koloniernas färg och morfologi.
- Tillväxten beror på kraven hos varje enskild mikroorganism. Det är möjligt att jäst med specifika metaboliska krav inte växer eller inte producerar färg.
- Vissa sällsynta bakteriestammar som kan vara resistent mot kloramfenikol kan växa på mediet med färgade kolonier.





- Även om de mikrobiella kolonierna på plattorna kan särskiljas på grundval av sina morfologiska och kromatiska egenskaper, rekommenderas att biokemiska, immunologiska, molekylära eller masspektrometriska tester utförs på isolat från renkultur för fullständig identifiering. Om det är relevant, utför test av antimikrobiell känslighet.
- Detta odlingsmedium är avsett som ett hjälpmedel vid diagnos av infektionssjukdomar. Tolkningen av resultaten måste göras med hänsyn till patientens kliniska historia, provets ursprung och resultaten från andra diagnostiska tester.

14 – FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

- Det här är en produkt för kvalitativ *in vitro*-diagnostik, endast avsedd för professionellt bruk. Den ska användas av adekvat utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal som iakttar godkända försiktighetsåtgärder mot biologiska risker och aseptiska tekniker.
- Uttorkade medier måste hanteras med lämpligt skydd. Konsultera säkerhetsdatabladet före användning.
- Detta odlingsmedium innehåller råmaterial av animaliskt ursprung. Kontroller av djuren *före* och *efter slakt* samt under produktions- och distributionscykeln för råvarorna kan inte helt garantera att denna produkt inte innehåller några överförbara patogener. Det rekommenderas därför att kulturmediet behandlas som potentiellt smittsamt och hanteras med iakttagande av de vanliga särskilda försiktighetsåtgärderna: förtår inte, andas inte in och undvik kontakt med hud, ögon eller slemhinnor. Ladda ner TSE Statement från webbplatsen www.biolifeitaliana.it, som beskriver de åtgärder som Biolife Italiana har vidtagit för att minska riskerna i samband med smittsamma djursjukdomar.
- Tillämpa god tillverkningssed vid beredningen av pläterade eller flaskförpackade medier.
- Alla laboratorieprover ska betraktas som smittsamma.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika föroreningar som odlingsmedium eller mikrobiella agens.
- Sterilisera allt biologiskt riskavfall innan det kasseras. Kassera det oanvända mediet och de steriliserade plattorna som inokulerats med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Använd inte odlingsmediet som aktiv ingrediens i farmaceutiska preparat eller som produktionsmaterial avsett för konsumtion av människor och djur.
- Analyscertifikaten och säkerhetsdatabladet för produkten finns tillgängliga på webbplatsen www.biolifeitaliana.it.
- Meddela Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) och berörda myndigheter om allvarliga incidenter som inträffar i samband med användningen av *in vitro*-diagnostiken.
- Informationen i detta dokument har definierats efter bästa kunskap och förmåga och utgör en riktlinje för korrekt användning av produkten men utan förpliktelse eller ansvar. I alla fall måste gällande lokala lagar, förordningar och standardförfaranden följas vid undersökning av prover som tagits från mänskliga och djurska organ, miljöprover och produkter avsedda för konsumtion av människor eller djur. Vår information befriar inte våra kunder från deras ansvar att kontrollera att våra produkter är lämpliga för det avsedda ändamålet.

15 – FÖRVARINGSFÖRHÅLLANDEN OCH HÅLLBARHET

Förvaras vid +2 °C /+8 °C på en torr plats, skyddad från direkt ljus. Vid korrekt förvaring kan produkten användas fram till utgångsdatum. Använd inte produkten efter detta datum. Undvik att öppna flaskan på fuktiga platser. Efter användning måste behållaren stängas ordentligt. Kassera produkten om behållaren och/eller locket är skadade, eller om behållaren inte är väl tillsluten, eller vid uppenbar försämring av pulvret (färgförändringar, hårdning, stora klumpar). Användaren ansvarar för tillverknings- och kvalitetskontrollprocesserna för beredda medier och för valideringen av giltighetstiden för de färdiga produkterna, beroende på typ (plattor/flaskor) och tillämpad förvaringsmetod (temperatur och förpackning).

16 – REFERENSER

1. Polacheck I, Melamed M, Bercovier H, Salkin IF. Beta-Glucosidase in *Candida albicans* and its application in yeast identification. J Clin Microbiol 1987;25:907-10.
2. Perry JL, Miller GR. Umbelliferyl-labeled galactosaminide as an aid in identification of *Candida albicans* J Clin Microbiol 1987;25:2424-5.
3. Willinger BW, Manafi M, Rotter ML. Comparison of rapid methods using fluorogenic-chromogenic assays for detecting *Candida albicans*. Letters App Microbiol 1994; 18:47-49
4. Perry JD. A Decade of Development of Chromogenic Culture Media for Clinical Microbiology in an Era of Molecular Diagnostics. Clin Microbiol Rev. 2017 Apr;30(2):449-479.
5. Andreoni S., Molinari G.L., Ruzza P., Dellera A. Evaluation of Chromogenic *Candida* Agar for isolation and presumptive identification of yeasts. XLI AMCLI Italian Clinical Microbiologists Association Congress Rimini, November 13-16, 2012.

408005 CHROMOGENIC CANDIDA AGAR

SDS rev 3

Förordning (EU) 2020/878

Innehåller: KLOAMFENIKOL

Klassificering:

Karcinogenicitet, kategori 2
Ögonirritation, kategori 2
Farligt för vattenmiljön,
kronisk toxicitet, kategori 3

H351 Misstänks kunna orsaka cancer
H319 Orsakar allvarlig ögonirritation.

H412 Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.

Faropiktogram:



Märkning

Signalord:

Varning

Faroangivelser:

H351

Misstänks kunna orsaka cancer.

H319

Orsakar allvarlig ögonirritation.

H412

Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.





Skyddsangivelser:

P280

P201

P308+P313

P337+P313

P273

Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

Inhämta särskilda instruktioner före användning.

Vid exponering eller misstanke om exponering: Sök läkarhjälp.

Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp.

Undvik utsläpp till miljön.

TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

REF eller REF Katalognummer	LOT Batch-kod	IVD Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik	Tillverkare	Använd senast
Temperaturbegränsning	Innehållet räcker till <n> tester	Se bruksanvisningen	Förvara skyddat från direkt ljus	Förvaras torrt

REVIDERINGSHISTORIK

Version	Beskrivning av ändringarna	Datum
Användningsinstruktioner (IFU) – Revidering 1	Uppdaterad layout och innehåll	2022/01
Revidering 2	Borttagning av föråldrad klassificering, lade till SDS-kapitel	2023/04

Anmärkning: mindre typografiska, grammatiska och formateringsändringar inkluderas inte i granskningshistoriken.

