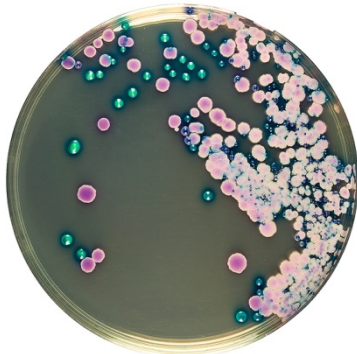


**ANVÄNDNINGSANVISNING***ChromArt***CHROMOGENIC CANDIDA AGAR****Färdiga plattor**

Kromogen Candida-agar:
C. albicans (grönblå kolonier), *C. tropicalis* (blågrå kolonier) och *C. krusei* (stora rosa-violetta kolonier)

1-AVSEDD ANVÄNDNING

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

2 – SAMMANSÄTTNING – TYPISK FORMEL *

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
Renat vatten	1000 ml

*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 svampdödande behandling 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 vanlig princip för dessa medier är användningen av ett kromogent substrat för β -hexosaminidas, för att skilja *C. albicans/C. dubliniensis*-gruppen från andra jästarter, samt ett andra kromogent substrat (vanligtvis för att detektera fosfatas eller β -glukosidas) för att ytterligare särskilja 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.: gruppen *C. albicans*–*C. dubliniensis* från *Candida tropicalis*, *Candida krusei* och andra *Candida* spp. Mediets selektivitet beror på förekomsten av kloramfenikol, som hämmar bakterietillväxten. Differentieringen uppnås genom närvaron av två kromogena föreningar. Hydrolysen av substratet för detektion av β -hexosaminidasenzymet hos *C. albicans* och *C. dubliniensis* resulterar i frisättning av en olöslig kromofor som stannar kvar inuti kolonierna och ger dem en typisk grönblå färg. Hydrolysen av det andra kromogena substratet resulterar i frisättning av en olöslig rosa kromofor och används för identifiering av andra arter: *Candida tropicalis* spalterar båda föreningarna med bildning av blågrå kolonier, medan andra arter av släktet *Candida* endast hydrolyserar den andra kromogena föreningen och bildar kolonier med olika nyanser av rosa.

4 - FYSISKA EGENSKAPER

Mediets utseende blekgult, klart
Slutligt pH vid 20–25 °C 6,0 ± 0,2

5 - MEDFÖLJANDE MATERIAL – FÖRPACKNING

Produkt	Typ	REF	Förpackning
Chromogenic Candida Agar	Färdiga plattor	548005	2 x 10 plattor, \varnothing 90 mm primärförpackning: 2 cellofanpåsar sekundärförpackning: kartong

6 - MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE INGÅR

Sterila öglor och svabbpinnar, inkubator och laborieutrustning efter behov, kompletterande odlingsmedier och reagenser för fullständig identifiering av kolonierna.

7 – PROVER

Chromogenic Candida Agar är avsett för bakteriologisk analys av icke-sterila kliniska prover, såsom svabbprover från mun, hals, svalg och vagina. Proverna ska om möjligt tas före behandling med antimikrobiella medel. God laboriepraxis för insamling, transport och förvaring av kliniska prover ska tillämpas.

8 – TESTFÖRFARANDE

Låt plattorna nå rumstemperatur och låt mediets yta torka. Inokulera genom att rulla provpinnen över ett litet område vid ytans kant; stryk sedan ut från detta inokulerade område för att få väl avgränsade kolonier. Inkubera de inokulerade plattorna under aeroba förhållanden vid 35–37 °C i 18–24 och 48 timmar.

9 – AVLÄSNING OCH TOLKNING

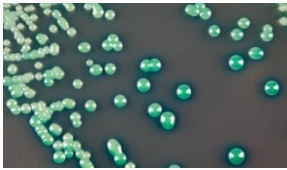
Efter inkubation observerar man bakterietillväxten och registrerar de specifika morfologiska och kromatiska egenskaperna hos de isolerade kolonierna.

Nedan följer en kort tolkningsguide.

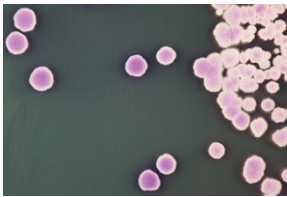




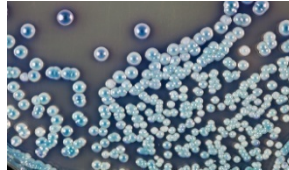
Lysande grönblå kolonier: karakteristiskt för *C. albicans*/*C. dubliniensis*. (*C. albicans* nedan)



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



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



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



Candida kefir bildar violett-röda kolonier.

Candida parapsilosis-komplexet bildar rosa, rosa-violetta kolonier.

Grampositiva och gramnegativa bakterier hämmas nästan helt.

10 – ANVÄNDARENS KVALITETSKONTROLL

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

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

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

11 - PRESTANDAEGENSKAPER

Prestandaegenskaperna hos 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 samt förvarade vid -80 °C, samt med 80 kliniska prover isolerade från andningsvägarna, vaginala sekret, urin och positiva blododlingar. Kromogen *Candida*-agar jämfördes med ett kromogent medium som finns på marknaden. Slutsatserna var följande: för jäststammar isolerade från humana prover visade jämförelsen mellan de två medierna i allmänhet en bättre tillväxt, vad gäller kolonistorlek efter 24 och 48 timmar, på Chromogenic *Candida* Agar; även kolonifärgen, vad gäller nyans och intensitet, var tydligare på Chromogenic *Candida*, vilket möjliggjorde en bättre differentiering mellan arter med liknande färger. Resultaten bekräftade att Chromogenic *Candida* Agar i hög grad kan säkerställa den preliminära identifieringen av vanliga kliniskt isolerade arter, vilket möjliggör en orientering för preliminär identifiering av jästarter med lägre isoleringsfrekvens. Den snabba tillväxten och färgintensiteten garanterar dessutom en morfologisk och färgbedömning på kortare tid.

Innan produkten släpps ut på marknaden ska ett representativt urval av alla partier av färdiga plattor med kromogen *Candida*-agar samt av den råvara som används för tillverkning av de färdiga plattorna (torkad kromogen *Candida*-agar, REF 408005) testas 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 20912, *C. dubliniensis* NCPF 3949, *C. intermedia* kliniskt isolat, *C. krusei* ATCC 6258, *C. parapsilosis* ATCC 6258, *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 tillväxtmängden och koloniernas färgkarakteristika. Alla *Candida*-arter utvecklar god tillväxt med följande färgkarakteristika (efter 48 timmars inkubation):

<i>C. albicans</i>	grönblå kolonier
<i>C. dubliniensis</i>	grönblå kolonier
<i>C. tropicalis</i>	blågrå kolonier
<i>C. intermedia</i>	blekrosa kolonier
<i>C. krusei</i>	rosa-violetta kolonier
<i>C. parapsilosis</i>	ljusrosa kolonier
<i>C. stellatoidea</i>	grönblå kolonier
<i>C. glabrata</i>	blekrosa kolonier

Selektiviteten utvärderas med hjälp av den modifierade Miles-Misra-metoden för droppprov genom att plattorna inokuleras med lämpliga decimalutspädningar i saltlösning av en 0,5 McFarland-suspension av icke-målstammarna *P. aeruginosa* ATCC 27853 och *E. faecalis* ATCC 19433. Tillväxten av icke-målstammarna hämmas fullständigt.





12 – METODENS BEGRÄNSNINGAR

- *C.dubliniensis* är β-hexosaminidaspositiv och bildar grönbå 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 mellan *Candida* spp. uppnås efter 48 timmars inkubation.⁵
- Andra *Candida* spp. än *C.albicans/C.dubliniensis* och *C.tropicalis* uppträder i olika nyanser av rosa/grått/violett, på grund av en blandning av naturlig pigmentering och de kromoforer som frigörs. Mikrobiologens erfarenhet kan hjälpa till att skilja dessa arter åt utifrån koloniernas färg och morfologi.
- Tillväxten beror på varje enskild mikroorganismers behov. Det är möjligt att jästsvampar med specifika metaboliska behov inte växer eller inte ger någon färg.
- Vissa sällsynta bakteriestammar som kan vara resistenta mot kloramfenikol kan växa på mediet och bilda färgade kolonier.
- Även om mikroorganismkolonierna på plattorna skiljs åt utifrån sina morfologiska och kromatiska egenskaper, rekommenderas att biokemiska, immunologiska, molekylära eller masspektrometriska tester utförs på isolat från renodlad odling för fullständig identifiering. Utför i förekommande fall testning av antimikrobiell känslighet.
- Detta odlingsmedium är avsett som ett hjälpmedel vid diagnos av infektionssjukdomar; tolkningen av resultaten måste göras med hänsyn till patientens sjukdomshistoria, provets ursprung och resultaten från andra diagnostiska tester.

13 – FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

- Denna produkt är ett kvalitativt *in vitro*-diagnostiskt medel, endast för professionellt bruk; den ska användas av adekvat utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal, med iakttagande av godkända försiktighetsåtgärder mot biologiska risker och aseptiska tekniker.
- Denna produkt är inte klassificerad som farlig enligt gällande europeisk lagstiftning.
- Detta odlingsmedium innehåller råvaror av animaliskt ursprung. Kontroller av djuren *före* och *efter slakt* samt under råvarornas produktions- och distributionscykel kan inte helt garantera att dessa produkter inte innehåller några överförbara patogener. Därför rekommenderas att de färdiga plattorna behandlas som potentiellt smittsamma och hanteras med iakttagande av de vanliga specifika försiktighetsåtgärderna: svälj inte, andas inte in och låt inte komma i kontakt med hud, ögon eller slemhinnor. Ladda ner TSE-uttalandet från webbplatsen www.biolifeitaliana.it, där de åtgärder beskrivs som Biolife Italiana har vidtagit för att minska risken i samband med smittsamma djursjukdomar.
- Alla laboratorieprover ska betraktas som smittsamma.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika kontaminanter såsom odlingsmedium eller mikrobiella agens.
- Varje platta med detta odlingsmedium är endast avsedd för engångsbruk.
- Färdiga plattor ska inte betraktas som en "steril produkt" eftersom de inte genomgår slutlig sterilisering, utan som en produkt med kontrollerad biologisk kontaminering, inom gränserna för de definierade specifikationer som anges i kvalitetskontrollcertifikatet.
- Sterilisera allt biologiskt avfall före bortskaftande. Kassera det oanvända mediet och plattorna som inokulerats med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Analyscertifikaten och säkerhetsdatabladet finns tillgängliga på webbplatsen www.biolifeitaliana.it.
- Informationen i detta dokument har sammanställts efter bästa kunskap och förmåga och utgör en riktlinje för korrekt användning av produkten, men utan förpliktelse eller ansvar. I samtliga fall måste gällande lokala lagar, förordningar och standardförfaranden följas vid undersökning av prover som samlats in från mänskliga och djuriska organiska områden, för miljöprover och för produkter avsedda för konsumtion av människor eller djur. Vår information befriar inte våra kunder från deras ansvar att kontrollera att vår produkt är lämplig för det avsedda ändamålet.

14 – FÖRVARINGSFÖRHÅLLANDEN OCH HÅLLBARHET

Vid mottagandet ska plattorna förvaras i sin originalförpackning vid 2–8 °C, skyddade från direkt ljus. Om de förvaras på rätt sätt kan plattorna användas fram till utgångsdatumet. Använd inte plattorna efter detta datum. Plattor från öppnade plastpåsar kan användas i 7 dagar om de förvaras i en ren miljö vid 2–8 °C. Använd inte plattorna om plastpåsen är skadad eller om skålen är trasig. Använd inte plattorna om de visar tecken på försämring (t.ex. mikrobiell kontaminering, uttorkning, krympning eller sprickbildning i mediet, onormal färg, överdriven fuktighet).

15 - REFERENSER

1. Polacke 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.

TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

REF eller REF Katalognummer	LOT Partikod	IVD Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik	Tillverkare	Använd före
Temperaturregränsning	Innehållet räcker till <n> tester	Se bruksanvisningen	Endast för engångsbruk	Ömtåligt, hanteras med försiktighet

REVISIONSHISTORIK

Version	Beskrivning av ändringar	Datum
Bruksanvisning (IFU) – Revision 1	Uppdaterad layout och innehåll i enlighet med IVDR 2017/746	2020/10
Bruksanvisning (IFU) – Revision 2	Borttagning av föråldrad klassificering	2023/03

Obs: mindre typografiska, grammatiska och formateringsmässiga ändringar ingår inte i revisionshistoriken.

