

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

USO PREVISTO

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate) (agar Sabouraud GC / terreno per **CHROMagar Candida**, su piastra doppia) viene usato per l'isolamento selettivo di funghi e l'isolamento e l'identificazione di *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* da campioni clinici.

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

Agar Sabouraud con glucosio è un terreno ampiamente utilizzato che grazie al basso pH e all'alta concentrazione di glucosio risulta parzialmente selettivo per i funghi. Poiché numerosi batteri tollerano il basso pH e l'alta concentrazione di glucosio e crescono su agar Sabouraud, in particolare dopo i lunghi periodi di incubazione spesso necessari per l'isolamento dei funghi, sono state elaborate diverse formule contenenti inibitori antibatterici. Gli antibiotici come la penicillina, il cloramfenicolo, gli aminoglicosidi, o una combinazione di tali agenti, sono in grado di inibire i batteri senza incidere sulla crescita dei funghi.¹⁻⁶

Nell'agar Sabouraud GC, l'azoto è fornito dai peptoni e il glucosio (destrosio) rappresenta la fonte di energia per la crescita dei funghi. Cloramfenicolo e gentamicina sono antibiotici a largo spettro che inibiscono un'ampia gamma di batteri Gram-negativi e Gram-positivi.

Il terreno per **CHROMagar Candida** è un terreno selettivo e differenziale per l'isolamento dei funghi. Aggiungendo al terreno alcuni substrati cromogeni, le colonie di *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* assumono varie tonalità, consentendo l'identificazione diretta dei lieviti sulla piastra di isolamento.⁷⁻¹² Le colonie di *C. albicans* assumono tonalità da verde a verde chiaro, le colonie di *C. tropicalis* appaiono da blu-verdastre a blu-metalliche e le colonie di *C. krusei* sono di color rosa chiaro con bordo biancastro. Altre specie di lieviti possono assumere il loro colore naturale (crema) o apparire rosate o malva con tonalità da chiare a scure [ad es. *Candida (Torulopsis) glabrata* e altre specie]. Un ulteriore vantaggio del terreno è la facilità con cui vengono rilevate le colture miste di lieviti, in quanto le rispettive colonie assumono colorazioni differenti.^{7,9-12}

I nutrienti del terreno per **CHROMagar Candida** sono forniti da peptoni specificamente selezionati. La miscela cromogena proprietaria è costituita da substrati artificiali (cromogeni), che liberano composti di vari colori quando vengono degradati da alcuni enzimi specifici. Ciò consente la differenziazione di alcune specie, o l'individuazione di determinati gruppi di organismi, riducendo al minimo i test di conferma. Il cloramfenicolo inibisce gran parte dei contaminanti batterici.

Il terreno per **CHROMagar Candida** è stato allestito da A. Rambach e viene commercializzato da BD Diagnostic Systems su licenza di CHROMagar, Parigi, Francia.

REAGENTI

Formule* per litro di acqua purificata

Agar Sabouraud con gentamicina e cloramfenicolo		Terreno per CHROMagar Candida	
Digerito pancreatico di caseina	5,0 g	Cromopeptone	10,0 g
Digerito peptico di tessuto animale	5,0	Glucosio	20,0
Glucosio	40,0	Mix cromogeno	2,0
Agar	15,0	Cloramfenicolo	0,5
Gentamicina	0,04	Agar	15,0
Cloramfenicolo	0,4	pH 6,0 ± 0,3	
pH 5,6 ± 0,2			

*Compensata e/o corretta per soddisfare i criteri di rendimento.

PRECAUZIONI

IVD . Solo per uso professionale.

Non usare le piastre se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazioni cromatiche, essiccamento, fessurazioni o altri segni di deterioramento.

Per maneggiare i prodotti in condizioni asettiche, riconoscere i rischi biologici e smaltire i prodotti usati, consultare le **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**.

CONSERVAZIONE E VITA UTILE

Alla consegna, conservare le piastre **al buio** a 2 – 8 °C nella confezione originaria fino a immediatamente prima dell'uso. Evitare congelamento e surriscaldamento. Le piastre possono essere inoculate sino alla data di scadenza (v. l'etichetta sulla confezione) e incubate per i tempi di incubazione raccomandati.

Le piastre prelevate dalle confezioni da 10 già aperte possono essere usate per una settimana se conservate in luogo pulito a 2 – 8 °C.

Ridurre al minimo l'esposizione alla luce prima e durante l'incubazione, in quanto la luce potrebbe distruggere i cromogeni.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per informazioni più dettagliate, v. **INFORMAZIONI GENERALI PER L'USO**). Incubare le piastre in aerobiosi a 35 ± 2 °C per 20 – 48 h.

Ceppi	Agar Sabouraud GC	Terreno per CHROMagar Candida
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Crescita da buona a eccellente, colonie biancastre	Crescita da buona a eccellente, colonie da verde a verde chiaro
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	Crescita da buona a eccellente, colonie piatte, da bianche a crema	Crescita da buona a eccellente, colonie piatte, da lievemente rosate a rosa, con bordo biancastro
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 1369	Crescita da buona a eccellente, colonie da bianche a color crema	Crescita da buona a eccellente, colonie da grigio-blu a blu-verdastre o blu metalliche, con o senza alone viola nel terreno circostante
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Inibizione da parziale a completa	Inibizione da parziale a completa
* <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	Crescita da buona a eccellente	Crescita da buona a eccellente
Non inoculate	Color ambra chiaro, trasparenti	Color ambra chiaro, trasparenti

* possono essere incubati fino a 4 giorni

PROCEDURA

Materiali forniti

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (piastre doppie impilate **Stacker** da 90 mm). Microbiologicamente controllate.

Per identificare i terreni sulla piastra doppia, l'agar Sabouraud GC viene contrassegnato con un punto nero.

Materiali non forniti

Terreni di coltura accessori, reagenti e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Tipi di campioni

I terreni sulla piastra doppia sono utilizzati per l'isolamento di funghi e l'isolamento e l'identificazione di *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* da tutti i campioni clinici (v. anche **PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).

Procedura del test

Per isolare le colonie, strisciare il campione o la coltura sulla superficie di ciascun terreno. Se il campione è ricavato da un tampone, passare delicatamente il tampone su una piccola area del bordo di ciascuna superficie, strisciando da queste aree con un'ansa. Incubare le piastre in aerobiosi a 35 +/- 2 °C. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce sia prima che durante l'incubazione. Controllare il terreno per CHROMagar Candida dopo 42 – 48 h. Poiché alcuni funghi filamentosi a crescita lenta potrebbero richiedere un periodo di incubazione più lungo, rimettere la piastra nell'incubatore e tenerla fino a 4 giorni, o più a lungo. Terminato questo periodo, ispezionare l'agar Sabouraud GC per individuare ulteriori isolati sfuggiti all'esame del terreno per **CHROMagar Candida**, ma non controllare ulteriormente il terreno dopo il prolungamento dell'incubazione. Per completare l'identificazione, differenziare ulteriormente gli isolati su agar Sabouraud GC.³⁻⁶ Isolati riscontrati occasionalmente, come *Cryptococcus neoformans* e funghi filamentosi, richiedono tempi più lunghi e temperature più basse per l'incubazione. Pertanto, se si sospetta la presenza di funghi che richiedono una temperatura di incubazione più bassa, inoculare con il campione una piastra di **BD Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol** e incubare a 25 – 30 °C.

Risultati

Dopo un adeguato periodo di incubazione, ricercare su agar Sabouraud GC colonie di funghi con le caratteristiche tonalità e morfologie. Per completare l'identificazione degli isolati, eseguire test biochimici e procedure microscopiche e sierologiche.³⁻⁶

Terreno per CHROMagar Candida: Esaminare il terreno su sfondo bianco. Se sono presenti *Candida* spp., le colonie appaiono di colore da verde a verde chiaro (*C. albicans*), da rosa a rosa chiaro con bordo biancastro (*C. krusei*) o da blu-verdastre a blu metalliche, con o senza aloni viola (*C. tropicalis*). Altri lieviti e *Candida* spp. appaiono di color malva chiaro o scuro (da rosato a viola) o, se non viene usato nessun substrato cromogeno, assumono la colorazione naturale delle colonie (da crema a bianco).

Vari studi indicano che non sono necessari ulteriori test per identificare *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*.^{7,9-11}

Le colonie che assumono una tonalità rosa, da chiara a scura, o da malva a viola, o hanno il naturale color crema, devono essere individuate usando i metodi convenzionali.⁷⁻¹¹

PRESTAZIONI METODOLOGICHE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate) viene utilizzato per l'isolamento selettivo di funghi (agar Sabouraud GC) e per l'isolamento e l'identificazione di *Candida albicans* e *C. tropicalis* (terreno per **CHROMagar Candida**).

Agar Sabouraud GC è un terreno convenzionale, ampiamente utilizzato per l'isolamento selettivo di funghi. Gli isolati su questo terreno devono essere ulteriormente differenziati usando le tradizionali procedure per l'identificazione dei miceti.¹⁻⁶

Nocardia e *Actinomyces* sono batteri filamentosi (non funghi!) e quindi non crescono su terreni Sabouraud contenenti inibitori batterici.

Per informazioni più dettagliate e procedure utili all'identificazione degli isolati, consultare le relative voci della bibliografia.^{3-6,8}

Diversi studi e manuali forniscono ulteriori informazioni sulle procedure consigliate per l'identificazione diretta di *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis* con il terreno per CHROMagar Candida.^{7,9-12} Jabra-Rizk e colleghi hanno documentato i risultati di una recente indagine valutativa sulle prestazioni di **BD CHROMagar Candida Medium**.¹¹

Su questo terreno, *Candida (Torulopsis) glabrata* produce generalmente colonie di colore da malva a malva scuro.⁹ Controllare gli organismi che assumono tale colorazione eseguendo ulteriori test biochimici, in quanto il colore delle colonie può essere prodotto da un'ampia varietà di lieviti.

Usare i metodi tradizionali per identificare le colonie che su questo terreno appaiono rosate o color malva, da chiaro a scuro, o assumono la loro naturale tonalità crema.³⁻⁵

Su questo terreno possono essere isolati anche funghi diversi dai lieviti, se vengono incubati a temperature e con tempi appropriati per questi organismi.

Poiché i funghi filamentosi possono metabolizzare i substrati cromogeni, i colori evidenziati da questi organismi sul terreno per **CHROMagar Candida** possono differire da quelli riscontrati su altri terreni per funghi. Su questo terreno, l'aspetto della crescita dei funghi filamentosi non costituisce un elemento utile per la tradizionale identificazione morfologica

C. dubliniensis sviluppa un caratteristico colore verde scuro dopo isolamento primario su terreno per **CHROMagar Candida**.¹³⁻¹⁵ Tale proprietà, tuttavia, può scomparire nella subcoltura. Sono necessari ulteriori test fenotipici e genotipici per confermare l'identificazione di *C. dubliniensis*. Per differenziare le due specie si possono usare semplici test fenotipici, come la crescita dell'isolato a 45 °C (*C. dubliniensis*: negativo; *C. albicans*: positivo).¹²

Prima di iniziare a usare **BD CHROMagar Candida Medium**, si consiglia di confrontare il tipico aspetto delle colonie con ceppi definiti di *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis*, ad es. i ceppi menzionati nella sezione **CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE**.

Diversi funghi filamentosi richiedono temperature di incubazione inferiori a quelle necessarie per **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)**. Tuttavia, l'incubazione delle piastre doppie a temperature inferiori a 35 °C può ritardare le reazioni cromogene su terreno per **CHROMagar Candida**.

BIBLIOGRAFIA

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for the isolation – cultivation – maintenance of medical bacteria. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London.
2. Atlas, R.M. 1993: Handbook of Microbiological media; CRC Press, Boca Raton.
3. Ajello, L., L.K. Georg, W. Kaplan, and L. Kaufman. 1963. CDC laboratory manual for medical mycology. PHS Publication No. 994, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
4. Larone, D.H. 1995: Medically important fungi - a guide to identification. Third edition. American Society for Microbiology Press, Washington.
5. Merz, W.G., Roberts, G.D. 1995: Detection and recovery of fungi from clinical specimens. In: Manual of Clinical Microbiology (eds. Murray, P.R. et al.) , p. 709-722. ASM Press, Washington D.C.
6. Weitzman, I., J. Kane, and R.C. Summerbell. 1995. Trichophyton, Microsporum, Epidermophyton and agents of superficial mycoses, p. 791-808. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Odds, F.C., and R. Bernaerts. 1994. CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. J. Clin. Microbiol. 32: 1923-1929.
8. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Pfaller, M.A., A. Huston, and S. Coffman. 1996. Application of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, and *Candida (Torulopsis) glabrata*. J. Clin. Microbiol. 34: 56-61.
10. Beighton, D., R. Ludford, D.T. Clark, S.R. Brailsford, C.L. Pankhurst, G.F. Tinsley, J. Fiske, D. Lewis, B. Daly, N. Khalifa, V. Marren, and E. Lynch. 1995. Use of CHROMagar Candida medium for isolation of yeasts from dental samples. J. Clin. Microbiol. 32: 3025-3027.
11. Jabra-Rizk, M.A. et al. 2001. Evaluation of a reformulated CHROMagar Candida Medium. J. Clin. Microbiol. 30: 2015-2016.
12. Hazen, K.H., and S.A. Howell. 2003. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Schoofs, A., F.C. Odds, R. Coleblunders, M. Ieven, and H. Goossens. 1997. Use of specialised isolation media for recognition and identification of *Candida dubliniensis* isolates from HIV-infected patients. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 16:296-300.

14. Kirkpatrick, W.R., S.G. Revankar, R.K. McAtee, J.L. Lopez-Ribot, A.W. Fothergill, D.I. McCarthy, S.E. Sanche, R.A. Cantu, M.G. Rinaldi, and T.F. Patterson. 1998. Detection of *Candida dubliensis* in oropharyngeal samples from Human Immunodeficiency Virus-infected patients in North America by primary CHROMagar Candida screening and susceptibility testing of isolates. J. Clin. Microbiol. 36:3007-3012.
15. Odds, F.C., L. Van Nuffel, and G. Dams. 1998. Prevalence of *Candida dubliensis* isolates in a yeast stock collection. J. Clin. Microbiol. 36:2869-2873.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

N. di cat. 254515 Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

ULTERIORI INFORMAZIONI

Per ulteriori informazioni, rivolgersi al rappresentante BD di zona.



BD Diagnostic Systems

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2003 Becton, Dickinson and Company