



PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ

I INTRODUZIONE

Questo terreno è usato per la coltivazione di dermatofiti e altri funghi patogeni e non patogeni da campioni clinici e non clinici.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare dei campioni rappresentativi con le colture sottoelencate.
 - a. Per *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 e *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 inoculare direttamente usando un'ansa da 0,01 mL di coltura cresciuta su **BBL Sabouraud Dextrose Agar**.
 - b. Per *Candida albicans* ATCC 10231 ed *Escherichia coli* ATCC 25922 inoculare usando 0,01 mL di sospensioni di soluzione fisiologica diluite in modo da ottenere una concentrazione di 10³ – 10⁴ UFC.
2. Incubare le provette con i tappi non completamente avvitati a 25 – 30°C per un massimo di 7 giorni, in atmosfera aerobica.
3. Risultati attesi

Microrganismi	ATCC	Isolamento
* <i>Candida albicans</i>	10231	Crescita lieve – intensa.
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Crescita lieve – intensa.
* <i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Inibizione (da parziale a completa)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Inibizione (da parziale a completa)

*Ceppo batterico raccomandato per il controllo di qualità a cura dell'utente.

III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

1. Esaminare le provette come descritto in "Deterioramento del prodotto".
2. Eseguire un esame visivo delle provette rappresentative per garantire che l'eventuale presenza di difetti fisici non interferisca con l'uso.
3. Determinare il pH mediante potenziometria a temperatura ambiente per verificare che rientri nel range specificato di 5,6 ± 0,2.
4. Incubare a 20 – 25 °C e 30 – 35 °C campioni rappresentativi non inoculati ed esaminarli dopo 7 giorni per verificare la contaminazione microbica.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

Questo terreno è usato in procedure qualitative per la coltivazione di dermatofiti e altri funghi patogeni e non patogeni da campioni clinici e non clinici.

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Sabouraud Dextrose Agar è un terreno universale concepito da Sabouraud per la coltivazione dei dermatofiti.¹ Il basso pH (pari a circa 5,6) favorisce la crescita dei funghi, soprattutto dermatofiti e inibisce i contaminanti batterici nei campioni clinici.²

Il pH acido del terreno può tuttavia inibire anche altre specie di funghi.² L'aggiunta di antibiotici migliora il recupero dei funghi patogeni da campioni altamente contaminati con batteri e funghi saprofiti.³

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Sabouraud Dextrose Agar è un terreno a base di peptoni supplementato con destrosio per supportare la crescita di funghi. L'aggiunta di antibiotici e antimicotici riduce la crescita di batteri e funghi saprofiti, che interferiscono con il recupero dei dermatofiti e dei funghi che causano micosi sistemiche.³ Il cloramfenicolo è un antibiotico ad ampio spettro in grado di inibire una vasta gamma di batteri gram-negativi e gram-positivi. La cicloeximide è un antimicotico principalmente attivo contro i funghi saprofiti e non inibisce lieviti o dermatofiti.

VII REAGENTI

BBL Sabouraud Dextrose CC Agar

Formula approssimata* per litro di acqua purificata

Digerito pancreatico di caseina	5,0 g	Agar	15,0 g
Digerito peptico di tessuto animale	5,0 g	Cloramfenicolo	0,05 g
Destrosio	40,0 g	Cicloexamide	0,5 g

*Formulazione aggiustata e/o supplementata per soddisfare i criteri prestazionali.

Avvertenze e precauzioni: Per uso diagnostico *in vitro*.

Aprire con estrema cautela le provette con i tappi serrati allo scopo di evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.

I campioni clinici possono contenere microrganismi patogeni, inclusi i virus dell'epatite e dell'immunodeficienza umana. Manipolare tutti i materiali e gli articoli contaminati con sangue e altri fluidi biologici in conformità alle norme dell'istituto e alle "Precauzioni standard".⁴⁻⁷ Prima dello smaltimento, sterilizzare in autoclave le provette preparate, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati.

Modalità di conservazione: Al ricevimento, conservare le provette al buio a 2 – 8°C. Evitare congelamento e surriscaldamento. Aprire soltanto al momento dell'uso. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce. I terreni in provetta conservati come indicato sull'etichetta sino al momento dell'uso, possono essere inoculati fino alla data di scadenza e incubati per un massimo di 6 settimane. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno sia a temperatura ambiente.

Deterioramento del prodotto: Non usare il terreno se presenta evidenze di contaminazione microbica, alterazione di colore, essiccamento o altri segni di deterioramento.

VIII RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Per informazioni dettagliate sulle procedure di raccolta e trattamento dei campioni, consultare la documentazione appropriata.⁸⁻¹¹

IX PROCEDURA

Materiale fornito: Sabouraud Dextrose CC Agar

Materiali necessari ma non forniti: Terreni di coltura accessori, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie.

Procedura del test: Adottare tecniche asettiche.

Inoculare il terreno non appena i campioni pervengono in laboratorio. Strisciare il campione sul terreno con un'ansa da inoculo sterile. Per informazioni sul trattamento e l'inoculo di campioni come tessuti, scarificazioni cutanee, capelli, unghie, ecc., consultare la documentazione appropriata.^{3,8-11}

Per l'isolamento di funghi che causano micosi cutanee, inoculare un terreno non selettivo insieme a uno selettivo. Incubare le provette a 25 – 30 °C.

Controllo di qualità a cura dell'utente Vedere "Procedure di controllo di qualità".

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Consultare le linee guida CLSI e le norme CLIA in materia, per una corretta esecuzione delle procedure relative al controllo di qualità.

X RISULTATI

Esaminare le provette almeno una volta alla settimana per verificare la crescita fungina. Conservare le colture per 4 – 6 settimane prima di classificarle come negative.

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Raramente è sufficiente un solo terreno per rilevare tutti i microrganismi potenzialmente significativi in un campione. Gli agenti di terreni selettivi possono inibire alcuni ceppi delle specie desiderate o consentire la crescita di una specie che erano destinati a inibire, soprattutto se la specie è presente in elevata concentrazione nel campione. Per ottenere maggiori informazioni e garantire il recupero ottimale di potenziali patogeni, i campioni coltivati su terreni selettivi devono pertanto essere coltivati anche su terreni non selettivi.

Ai fini dell'identificazione, i microrganismi devono essere in coltura pura. Per l'identificazione finale, è necessario eseguire test morfologici, biochimici e/o sierologici. Per informazioni dettagliate e procedure raccomandate, consultare la documentazione appropriata.^{3,8,9,11-13}

XII CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Prima della spedizione, vengono testati tutti i lotti di Sabouraud Dextrose CC Agar per verificarne le caratteristiche prestazionali. Campioni rappresentativi del lotto vengono inoculati direttamente con *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 e *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 cresciuti su **BBL** Sabouraud Dextrose Agar. I campioni sono testati anche con sospensioni in soluzione fisiologica normale di *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Candida albicans* ATCC 10231 diluite in modo da ottenere 10³ – 10⁴ UFC. Le provette vengono incubate a 25 – 30 °C con i tappi non completamente avvitati, per un massimo di 7 giorni in atmosfera aerobica. Con *T. mentagrophytes* e *C. albicans*, si osserva una crescita da moderata a intensa. *A. brasiliensis* ed *E. coli* sono da parzialmente a completamente inibiti.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
297649	BD BBL Sabouraud Dextrose CC Agar, confezione da 10 provette slant di misura A

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Sabouraud, R. 1910. Les teignes, p. 553. Masson et Cie, Paris.
2. 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.
3. Weitzman, I., J. Kane, and R.C. Summerbell. 1995. *Trichophyton*, *Microsporium*, *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.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
5. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. *Infect. Control Hospital Epidemiol* 17:53-80.
6. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from the risks related to exposure to the biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). *Official Journal L262*, 17/10/2000, p. 0021-0045.
8. Haley, L.D., H. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. Cumitech 11, Practical methods for culture and identification of fungi in the clinical mycology laboratory. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
10. Merz, W.G., and G.D. Roberts. 1995. Detection and recovery of fungi from clinical specimens, p. 709-722. 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.
11. Kwon-Chung, K.J., and J.E. Bennett. 1992. Medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
12. Larone, D.H. 1995. Medically important fungi: a guide to identification, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1992. Mycology, p. 791-877. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 4th ed., J.B. Lippincott Co., Philadelphia.

Assistenza e supporto tecnico BD Diagnostics: rivolgersi al rappresentante locale BD o visitare il sito www.bd.com/ds.

 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA

 Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD.