



BD Mycosel Agar • BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide

PRZEZNACZENIE

BD Mycosel Agar i **BD Agar Sabourauda z chloramfenikolem i cykloheksymidem** są wysoce selektywnymi podłożami do izolacji grzybów patogennych z materiałów cechujących się obecnością dużej flory innych grzybów i bakterii. Nie są to uniwersalne podłoża do izolacji wszystkich grzybów (w tym pleśniaków i saprofitycznych drożdżaków).

ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.

Podstawą **BD Mycosel Agar** jest **Mycophil™ Agar**, podłoże przeznaczone do hodowli, wykazania produkcji barwnika oraz podtrzymania wzrostu grzybów.¹

Postawą **BD Agar Sabourauda z chloramfenikolem i cykloheksymidem** jest agar Sabourauda z glukozą, uniwersalne podłoże opracowane przez Sabourauda do hodowli dermatofitów.² Mała wartość pH wynosząca około 5,6 oraz duże stężenie glukozy sprzyja wzrostowi wszystkich grzybów.^{1,3}

BD Mycosel Agar i **BD Agar Sabourauda z chloramfenikolem i cykloheksymidem** zawierają składniki odżywcze, których źródłem są peptony. Źródło energii stanowi glukoza.

Cykloheksymid stosuje się w różnych podłożach przeznaczonych do izolacji grzybów patogennych w celu zahamowania wzrostu niektórych niepatogennych grzybów, takich jak saprofityczne pleśniaki i drożdżaki. Substancja ta jest szczególnie pomocna w przypadku izolacji dermatofitów.⁴ Ze względu na to, że patogenność grzybów i stan układu odpornościowego chorych różnią się, należy zachować ostrożność podczas izolacji grzybów przy użyciu jedynie podłoża z cykloheksymidem, ponieważ niektóre oportunistyczne grzyby mogą zostać przeoczone.^{5,6}

Chloramfenikol jest antybiotykiem o szerokim spektrum działania, powodującym zahamowanie wzrostu wielu różnorodnych bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich bakterii, jednak może także cechować się działaniem hamującym wzrost kilku grzybów patogennych.¹

BD Mycosel Agar i **BD Agar Sabourauda z chloramfenikolem i cykloheksymidem** wykazują podobieństwa w zakresie składu i selektywności, jednak drugie wymienione podłoże cechuje się małą wartością pH, co może być zaletą podczas izolacji grzybów tolerujących kwaśne środowisko. Może to być jednak także i wada, w przypadku konieczności izolacji grzybów, które wolą środowisko o większej wartości pH.

Podłoża te są wykorzystywane do izolowania grzybów z próbek pochodzenia klinicznego oraz materiałów podejrzanym o zanieczyszczenia bakteryjne i grzybicze.

ODCZYNNIKI

Skład* w przeliczeniu na litr wody oczyszczonej

BD Mycosel Agar		BD Agar Sabourauda z chloramfenikolem i cykloheksymidem	
Papainowy hydrolizat mączki sojowej	10,0 g	Trzustkowy hydrolizat kazeiny	5,0 g
Glukoza	10,0	Hydrolizat pepsynowy tkanki zwierzęcej	5,0
Cykloheksymid	0,4	Glukoza	40,0
Chloramfenikol	0,05	Chloramfenikol	0,05
Agar	15,5	Cykloheksymid	0,4
pH	6,9 ± 0,2	Agar	23,5
		pH	5,6 ± 0,2

*Dostosowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami w celu spełnienia kryteriów wydajności.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych. ⓧ

Nie należy używać płytek, jeżeli widoczne są na nich ślady skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości.

Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz usuwanie zużytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**.

WARUNKI I OKRES PRZECHOWYWANIA

Dostarczone płytki należy przechowywać w zaciemnionym pomieszczeniu, w temperaturze od 2 do 8°C, w oryginalnych opakowaniach w formie rękawa, aż do momentu bezpośrednio poprzedzającego użycie. Nie zamrażać i nie przegrzewać. Płytki należy wykorzystać do posiewu bakterii przed upływem daty ważności (zobacz etykietę na opakowaniu) i inkubować zgodnie z zalecanymi czasami inkubacji.

Płytki z otwartego zestawu 10 płytek można zużyć w ciągu jednego tygodnia, pod warunkiem przechowywania w czystym miejscu w temperaturze 2 do 8° C.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Podłoża inokuluje się reprezentatywnymi próbkami wymienionych szczepów (szczegółowe informacje – zobacz dokument **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**).

Informacje na temat inkubacji znajdują się pod tabelą.

Szczepy	BD Mycosel Agar	BD Agar Sabourauda z chloramfenikolem i cykloheksymidem
* <i>Candida albicans</i> ATCC™ 10231	Wzrost dobry lub bardzo dobry	Wzrost dobry lub bardzo dobry
*** <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533	Wzrost dobry lub bardzo dobry	Wzrost dobry lub bardzo dobry
** <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu	Częściowe lub całkowite zahamowanie wzrostu
** <i>Saccharomyces cerevisiae</i> DSM 1333	Całkowite zahamowanie wzrostu	Całkowite zahamowanie wzrostu
* <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Całkowite zahamowanie wzrostu	Całkowite zahamowanie wzrostu
* <i>Staphylococcus aureus</i> 25923	Całkowite zahamowanie wzrostu	Całkowite zahamowanie wzrostu

Inkubacja: *48 godz. / **3 do 4 dni / ***5 do 7 dni, w temperaturze 25 - 28°C, w warunkach tlenowych

PROCEDURA

Dostarczane materiały

BD Mycosel Agar lub **BD Agar Sabourauda z chloramfenikolem i cykloheksymidem**, dostarczane w postaci płytek **Stacker** o rozmiarze 90 mm. Sprawdzane pod względem obecności drobnoustrojów.

Materiały niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki oraz potrzebny sprzęt laboratoryjny.

Typy próbek

Produkty opisane w niniejszych materiałach informacyjnych są podłożami do izolacji grzybów patogennych, pochodzących zwłaszcza, ale nie wyłącznie, z materiałów dermatologicznych (zob. także **CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW ORAZ OGRANICZENIA PROCEDURY**).

Procedura testowa:

Po przekazaniu materiału do laboratorium jak najszybciej należy rozprowadzić materiał w postaci pasm na podłożach **BD Mycosel Agar** lub **BD Agar Sabourauda z chloramfenikolem i cykloheksymidem**. Płytką do posiewu służy przede wszystkim do izolowania czystych hodowli z próbek zawierających florę mieszaną. Ewentualnie, jeżeli materiał jest hodowany bezpośrednio z wymazówki, można przetoczyć wymazówkę po niewielkiej powierzchni na krawędzi płytki, a następnie wykonać posiew poprzez rozprowadzenie materiału po podłożu.

- Jeśli próbka składa się z wyskrobin ze skóry, włosów lub paznokci, materiał należy umieścić na środku powierzchni podłoża. W miarę możliwości większe cząstki należy delikatnie wcisnąć w powierzchnię za pomocą sterylnej pincety w celu zapewnienia dobrego kontaktu z podłożem.
- W przypadku izolacji grzybów wywołujących grzybice uogólnione, należy wykonać posiew na dwóch zestawach podłoża – jeden inkubować w temperaturze 25 do 30°C, a drugi - 35 do 37°C.
- Zaleca się uwzględnienie w wykonywanych posiewach także płytki **BD Sabouraud Glucose Agar**, aby zapewnić wzrost wszystkich patogenów grzybiczych obecnych w materiale.
- Ponadto należy wykonać posiew na podłożu nieselektywne, takim jak Agar Columbia wzbogacony 5% krwią owczą, aby zapewnić wykrycie innych patogenów bakteryjnych obecnych w próbce.

W przypadku wykorzystania podłoża do wykrycia drożdży (np. rodzaju *Candida*) w próbkach pochodzenia klinicznego, płytki należy inkubować przez 48 godzin w temperaturze 30–35°C. W przypadku podejrzenia grzybów nitkowatych, w tym dermatofitów, inkubację należy prowadzić przez okres do jednego tygodnia w temperaturze 25–30°C. Czasem do uzyskania wzrostu dermatofitów konieczna jest inkubacja przez okres 3 tygodni lub dłużej. Jeśli okres inkubacji jest dłuższy niż 3 dni, należy zapewnić odpowiednią wilgotność. W celu uniknięcia wysychania podłoża płytki można uszczelnić taśmą klejącą.

Wyniki

Po odpowiednim okresie inkubacji na płytkach mogą pojawić się pojedyncze kolonie w miejscach pasmowego posiewu oraz wzrost zlewny w obszarach gęstego zaszczepienia. Płytki należy zbadać pod kątem obecności kolonii grzybów o typowym zabarwieniu i morfologii. W celu potwierdzenia wyników należy wykonać testy biochemiczne, badania mikroskopowe i serologiczne.

Ze względu na to, że liczba grzybów jest duża, w niniejszym dokumencie nie podano szczegółowych informacji na temat ich wyglądu kolonii. Należy zapoznać się z przedstawionymi pozycjami piśmiennictwa.³⁻⁹

CHARAKTERYSTKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY

Opisane podłoża stosuje się w celu izolacji grzybów patogennych z materiałów cechujących się dużym stopniem zanieczyszczenia mikrobiologicznego. Ze względu na długi okres inkubacji potrzebny do izolacji dermatofitów (który umożliwia przełamanie wzrostu niepożądanych czynników zanieczyszczających próbkę, występującego na mniej selektywnych podłożach), podłoża te są szczególnie pomocne w izolacji grzybów powodujących zakażenia skóry, takich jak gatunki *Trichophyton* i *Microsporum* oraz wiele innych. Podłoża można także stosować do izolacji *Candida albicans* i wielu innych grzybów z gatunku *Candida*.

Wzrost niektórych grzybów patogennych może być zahamowany przez środki przeciwbakteryjne zawarte w opisanym podłożu. Dlatego w przypadku stosowania podłoży zawierających chloramfenikol i/lub cykloheksymid należy wykonać posiew także na podłożu **BD Sabouraud Glucose Agar**.

Pleśniaki (np. gatunki *Aspergillus*) oraz wiele gatunków drożdżaków często uważa się za czynniki niepatogenne, jednak czasami mogą one wywoływać zakażenia, zwłaszcza u osób z upośledzoną odpornością i poważnie chorych. Zwykle wymienione grzyby nie rosną na podłożach zawierających cykloheksymid. Dlatego przy wykonywaniu posiewów należy uwzględnić podłoża grzybicze niezawierające wymienionego czynnika hamującego wzrost.

Ze względu na szeroki zakres temperatur wymagany do wzrostu grzybów konieczne może być wykonanie posiewów na kilku płytkach oraz inkubowanie ich w różnych temperaturach. Należy sprawdzić informacje zawarte w części **Procedura testowa** oraz w odpowiednim piśmiennictwie.⁵⁻⁹

Nocardia i *Actinomyces* są bakteriami nitkowatymi (a nie grzybami!), w związku z tym nie obserwuje się ich wzrostu na podłożach Sabouraud zawierających substancje hamujące wzrost bakterii.

PIŚMIENNICTWO

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria. vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
2. Sabouraud, R. 1892. Contribution a l'etude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bacteriologique sur la pluralité des trichophytens de l'homme. Ann. Dermatol. Syphil. 3: 1061-1087.
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. Haley, L.D., J. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. Cumitech 11, Practical methods for culture and identification of fungi in the clinical microbiology laboratory. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Sutton, D.A. 2003. Specimen collection, transport, and processing: mycology. 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.
6. Summerbell, R.C. 2003. *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, and agents of superficial mycoses. 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.
7. Larone, D.H. 2002. Medically important fungi: a guide to identification. 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Kwon-Chung, K.J., and J.E. Bennett. 1992. Medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
9. Fromtling, R.A. 1995. Mycology. 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.

OPAKOWANIE/DOSTĘPNOŚĆ

BD Mycosel Agar

Nr kat. 254417

Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, 20 płytek

BD Agar Sabourauda z chloramfenikolem i cykloheksymidem

Nr kat. 255504

Gotowe podłoża na płytkach hodowlanych, 20 płytek

DODATKOWE INFORMACJE

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy BD.



Becton Dickinson GmbH

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

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection
BD, logo, Mycosel, Mycophil and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company
© 2012 Becton, Dickinson and Company