

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplatte)

VERWENDUNGSZWECK

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplatte) (BD Sabouraud-GC-Agar / CHROMagar-Candida-Medium (Doppelplatte) wird zur selektiven Isolierung von Pilzen und zur Isolierung und Identifizierung von *Candida albicans*, *C. tropicalis* und *C. krusei* aus klinischen Proben verwendet.

GRUNDLAGEN UND ERLÄUTERUNG DES VERFAHRENS

Mikrobiologische Methode.

Sabouraud-Agar mit Glucose ist ein weitverbreitetes Medium, welches auf Grund seines niedrigen pH-Wertes und der hohen Glucose-Konzentration für Pilze teilweise selektiv ist. Da viele Bakterien den niedrigen pH-Wert und die hohe Glucose-Konzentration tolerieren und auf Sabouraud-Agar Wachstum zeigen, insbesondere während der zur Isolierung von Pilzen häufig notwendigen verlängerten Inkubationszeit, wurden verschiedene, antibakterielle Inhibitoren enthaltende Rezepturen entwickelt. Antimikrobielle Substanzen, wie z.B. Penicillin, Chloramphenicol, Aminoglykoside oder Kombinationen dieser Agenzien, haben sich als wirkungsvoll zur Hemmung von Bakterien erwiesen, ohne das Wachstum von Pilzen zu beeinträchtigen.¹⁻⁶

In Sabouraud-GC-Agar agieren Peptone als Stickstoffquellen. Glucose (=Dextrose) ist eine Energiequelle für das Wachstum von Pilzen. Chloramphenicol und Gentamicin sind Breitbandantibiotika, die eine Vielzahl gramnegativer und grampositiver Bakterien hemmen.

CHROMagar-Candida-Medium ist ein selektives Differenzierungsmedium zur Isolierung von Pilzen. Durch den Zusatz von chromogenen Substraten zu diesem Medium zeigen Kolonien von *C. albicans*, *C. tropicalis* und *C. krusei* verschiedene Farben, was den direkten Nachweis dieser Hefespezies auf der Isolierungsplatte erlaubt.⁷⁻¹² *C. albicans*-Kolonien erscheinen hell- bis mittelgrün, *C. tropicalis*-Kolonien blau-grünlich bis metallisch blau und *C. krusei*-Kolonien hellrosa mit weißlichem Rand. Andere Hefespezies entwickeln entweder ihre natürliche Farbe (cremefarben) oder sie erscheinen rosafarben oder hell- bis dunkel-mauvefarben (z.B. *Candida (Torulopsis) glabrata* und andere Spezies). Ein zusätzlicher Vorteil dieses Mediums ist der einfache Nachweis von gemischten Hefekulturen auf Grund des Erscheinungsbildes der Kolonien in verschiedenen Farben.^{7,9-12}

Speziell ausgewählte Peptone liefern die Nährstoffe in **CHROMagar Candida Medium**. Eine herstellereigene Chromogen-Mischung besteht aus künstlichen Substraten (Chromogenen), welche beim Abbau durch spezifische Enzyme verschiedenfarbige Verbindungen freisetzen. Dies erlaubt die Differenzierung von bestimmten Spezies oder den Nachweis von gewissen Gruppen von Organismen mit einem Minimum an Bestätigungstests. Chloramphenicol hemmt das Wachstum der meisten bakteriellen Kontaminanten.

CHROMagar-Candida-Medium wurde von A. Rambach entwickelt und wird von BD Diagnostic Systems unter einem Lizenzabkommen mit CHROMagar, Paris, Frankreich, vertrieben.

REAGENZIEN

Zusammensetzungen* pro 1 Liter destilliertem Wasser

Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol		CHROMagar Candida Medium	
Pankreatisch abgebautes Casein	5,0 g	Chromopepton	10,0 g
Peptisch abgebautes Tiergewebe	5,0	Glucose	20,0
Glucose	40,0	Chromogenmischung	2,0
Agar	15,0	Chloramphenicol	0,5
Gentamicin	0,04	Agar	15,0
Chloramphenicol	0,4	pH 6,0 ± 0,3	
pH 5,6 ± 0,2			

*Nach Bedarf abgestimmt und/oder ergänzt auf die geforderten Testkriterien.

VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD . Nur für den professionellen Gebrauch.

Agarplatten bei Anzeichen von mikrobieller Kontamination, Verfärbung, Austrocknung, Rissen oder sonstigen Anzeichen von Produktverfall nicht verwenden.

Hinweise zur aseptischen Arbeitsweise, Biogefährdung und Entsorgung des Produkts sind der **ALLGEMEINEN GEBRAUCHSANLEITUNG** zu entnehmen.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Nach Erhalt Platten bis unmittelbar vor dem Gebrauch **im Dunkeln** bei 2 – 8 °C in der Originalverpackung lagern. Einfrieren und Überhitzen vermeiden. Die Platten können bis zum Verfallsdatum (s. Kennzeichnung auf der Verpackung) inokuliert und entsprechend den empfohlenen Inkubationszeiten inkubiert werden.

Platten aus bereits geöffneten Stapeln mit jeweils 10 Platten können bei Lagerung in einem sauberen Bereich bei 2 – 8 °C bis zu einer Woche verwendet werden.

Vor und während der Inkubation vor Lichteinwirkung schützen, da Licht die Chromogene zerstören könnte.

QUALITÄTSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER

Repräsentative Proben mit den nachfolgend aufgeführten Stämmen inokulieren (detaillierte Informationen siehe **ALLGEMEINE GEBRAUCHSANLEITUNG**). Platten 20 – 48 h bei 35 ± 2 °C aerob inkubieren.

Stämme	Sabouraud GC Agar	CHROMagar Candida Medium
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Gutes bis sehr gutes Wachstum; weiße Kolonien	Gutes bis sehr gutes Wachstum; hell- bis mittelgrüne Kolonien
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	Gutes bis sehr gutes Wachstum; weiße bis cremefarbene, flache Kolonien	Gutes bis sehr gutes Wachstum; hell rosa- bis pinkfarbene, flache Kolonien mit weißlichem Rand
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 1369	Gutes bis sehr gutes Wachstum; weiße bis cremefarbene Kolonien	Gutes bis sehr gutes Wachstum; grau-blaue bis blau-grünliche oder metallisch blaue Kolonien mit oder ohne violetten Höfen im umgebenden Medium
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum	Teilweise bis vollständig gehemmtes Wachstum
* <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	Gutes bis sehr gutes Wachstum	Gutes bis sehr gutes Wachstum
Nicht inokuliert	Hell bernsteinfarben, transparent	Hell bernsteinfarben, transparent

* können bis zu 4 Tage lang inkubiert werden.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (90 mm **Stacker**-Doppelplatten).

Mikrobiologisch kontrolliert.

Zur Identifizierung der Medien auf dieser Doppelplatte ist Sabouraud GC Agar mit einem schwarzen Punkt markiert.

Nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial

Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien und Laborgeräte nach Bedarf.

Probenarten

Die Medien auf dieser Doppelplatte werden zur Isolierung von Pilzen und zur Isolierung und Identifizierung von *Candida albicans*, *C. tropicalis* und *C. krusei* aus allen klinischen Probenarten verwendet (siehe auch **LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**).

Testverfahren

Probe oder Kultur zur Isolierung auf der Oberfläche beider Medien ausstreichen. Falls die Probe direkt von einem Tupfer kultiviert wird, Tupfer leicht über einen kleinen Bereich am Rand beider Oberflächen rollen und anschließend aus diesen Bereichen mit einer Öse ausstreichen. Platten bei 35 ± 2 °C aerob inkubieren. Vor und während der Inkubation vor Lichteinwirkung schützen. **CHROMagar-Candida-Medium** nach 42 – 48 h ablesen. Da einige langsam wachsende filamentöse Pilze eine längere Inkubationszeit benötigen können, Platte in den Inkubator zurücklegen und bis zum 4. Tag oder länger inkubieren. Danach Sabouraud-GC-Agar auf zusätzliche Isolate untersuchen, welche auf **CHROMagar-Candida-Medium** noch nicht festgestellt wurden. **CHROMagar-Candida-Medium** nach der verlängerten Inkubationszeit jedoch nicht mehr ablesen. Die Isolate auf Sabouraud-GC-Agar müssen zur vollständigen Identifizierung weiter differenziert werden.³⁻⁶ Gelegentlich auftretende Isolate, wie z.B. *Cryptococcus neoformans* und filamentöse Pilze, benötigen eine längere Inkubationszeit und gegebenenfalls eine niedrigere Inkubationstemperatur. Aus diesem Grund wird bei Verdacht auf Pilze, welche eine niedrigere Inkubationstemperatur benötigen, die Inokulierung einer **BD Sabouraud Agar with Gentamicin und Chloramphenicol**-Platte mit der Probe und deren Inkubation bei 25 – 30 °C empfohlen.

Ergebnisse

Nach ausreichender Inkubation Sabouraud-GC-Agar auf Pilzkolonien typischer Farbe und Morphologie untersuchen. Zur vollständigen Identifizierung der Isolate sollten biochemische Tests, sowie mikroskopische und serologische Verfahren durchgeführt werden.³⁻⁶

CHROMagar-Candida-Medium: Es wird empfohlen, dieses Medium vor einem weißen Hintergrund abzulesen. Wenn *Candida*-Spezies vorhanden sind, erscheinen die Kolonien hell- bis mittelgrün (*C. albicans*), hell-rosa- bis pinkfarben mit weißlichem Rand (*C. krusei*) oder blau-grünlich bis metallisch-blau mit oder ohne violetten Höfen (*C. tropicalis*). Andere *Candida*-Spezies und Hefen erscheinen hell- bis dunkel-mauvefarben (rosafarben bis violett) oder nehmen, wenn keines der chromogenen Substrate verwendet wird, ihre natürliche Koloniefarbe an (cremefarben bis weiß).

Daten aus verschiedenen Studien weisen darauf hin, dass weitere Tests zu Identifizierung von *Candida albicans*, *C. tropicalis* und *C. krusei* nicht notwendig sind.^{7,9-11}

Hell- bis dunkelrosafarbene oder mauvefarbene bis violette Kolonien, oder Kolonien, welche in ihrer natürlichen cremefarbenen Erscheinungsform auftreten, müssen mit Hilfe von Standardverfahren identifiziert werden.⁷⁻¹¹

LEISTUNGSMERKMALE UND VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate) wird zur selektiven Isolierung von Pilzen (Sabouraud-GC-Agar) und zur Isolierung und Identifizierung von *Candida albicans*, *C. krusei* und *C. tropicalis* (**CHROMagar-Candida-Medium**) verwendet.

Sabouraud-GC-Agar ist ein weitverbreitetes konventionelles Medium zur selektiven Isolierung von Pilzen. Isolate von diesem Medium müssen mit Hilfe der klassischen Verfahren zur Identifizierung von Pilzen weiter differenziert werden.¹⁻⁶

Nocardia und *Actinomyces* sind filamentöse Bakterien (keine Pilze!) und wachsen deshalb nicht auf den Sabouraud-Medien mit bakteriellen Inhibitoren.

Für detaillierte Informationen und die empfohlenen Verfahren zur Identifizierung der Isolate sind die geeigneten Literaturhinweise zu beachten.^{3-6,8}

Die Verwendung von **CHROMagar-Candida-Medium** zur direkten Identifizierung von *C. albicans*, *C. krusei* und *C. tropicalis* wurde in verschiedenen Studien und Handbüchern dokumentiert, welche ebenfalls zwecks weiterer Informationen über die empfohlenen Verfahren hinzugezogen werden können.^{7,9-12} Jabra-Rizk und Mitarbeiter haben über die Resultate einer kürzlich durchgeführten Leistungsanalyse von **BD CHROMagar Candida Medium** berichtet.¹¹

Candida (Torulopsis) glabrata produziert auf diesem Medium üblicherweise mauve- bis dunkel-mauvefarbene Kolonien.⁹ Es wird jedoch empfohlen, dass Kolonien dieser Farbe durch weitere biochemische Tests bestätigt werden, da diese Kolonienfarbe von einer Vielzahl von Hefespezies produziert wird.

Rosafarbene oder hell – bis dunkel-mauvefarbene Kolonien, oder Kolonien, welche auf diesem Medium in ihrer natürlichen cremefarbenen Erscheinungsform auftreten, müssen mit Hilfe von Standardverfahren identifiziert werden.³⁻⁵

Andere Pilze außer Hefen können auf diesem Medium ebenfalls isoliert werden, wenn die Platten bei einer für diese Organismen geeigneten Temperatur und für einen entsprechenden Zeitraum inkubiert werden.

Da filamentöse Pilze möglicherweise die chromogenen Substrate metabolisieren, können sich die Farben dieser Organismen auf **CHROMagar-Candida-Medium** von jenen auf anderen Pilzmedien unterscheiden. Das Wachstumsbild filamentöser Pilze auf diesem Medium darf nicht zur traditionellen morphologischen Identifizierung verwendet werden.

Es wurde berichtet, dass *C. dubliniensis* bei der Erstisolierung auf **CHROMagar-Candida-Medium** eine typische dunkelgrüne Farbe aufweist.¹³⁻¹⁵ Diese Eigenschaft wird jedoch in Subkulturen nicht beibehalten. Zusätzliche phänotypische und genotypische Tests sind zur Bestätigung von *C. dubliniensis* notwendig. Einfache phänotypische Tests, z.B. Wachstum der Isolate bei 45 °C (*C. dubliniensis*: negativ; *C. albicans*: positiv), können zur Differenzierung dieser beiden Spezies angewendet werden.¹²

Vor der erstmaligen Verwendung von **BD CHROMagar Candida Medium** empfehlen wir, sich das typische Erscheinungsbild der Kolonien mit Hilfe von definierten Stämmen von *C. albicans*, *C. krusei* und *C. tropicalis* (z.B. den unter **QUALITÄSSICHERUNG DURCH DEN ANWENDER** erwähnten Stämmen) einzuprägen.

Verschiedene filamentöse Pilze benötigen eine niedrigere Inkubationstemperatur als **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)**. Eine Inkubation dieser Doppelplatte bei Temperaturen unter 35 °C könnte jedoch die chromogenen Reaktionen auf **CHROMagar-Candida-Medium** verzögern.

LITERATUR

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, 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. Yolken (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. Yolken (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. Yolken (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. Goosens. 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 dubliniensis* 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 dubliniensis* isolates in a yeast stock collection. J. Clin. Microbiol. 36:2869-2873.

VERPACKUNG/LIEFERBARE PRODUKTE

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

Best.-Nr. 254515 Gebrauchsfertige Plattenmedien, 20 Platten

WEITERE INFORMATIONEN

Weitere Informationen erhalten Sie bei Ihrer örtlichen BD-Vertretung.



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