

BD Mycosel Agar[®] BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide

USO PREVISTO

BD Mycosel Agar e **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide** (agar Sabouraud con cloramfenicolo e cicloeximide) sono basi altamente selettive per l'isolamento di funghi patogeni da materiali che presentano una ricca flora di miceti e batteri, non sono terreni generici usati per l'isolamento di tutti i miceti (inclusi lieviti saprofitici e muffe).

PRINCIPI E SPIEGAZIONE DELLA PROCEDURA

Metodo microbiologico.

BD Mycosel Agar è basato su **Mycophil Agar**, un terreno allestito per la coltura, la dimostrazione della cromogenesi e la conservazione dei miceti.¹

BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide è ricavato dall'agar Sabouraud con glucosio, un terreno generico ideato da Sabouraud per coltivare i dermatofiti.² Il pH basso, intorno a 5,6, e l'elevata concentrazione di glucosio favoriscono lo sviluppo di tutti i miceti.^{1,3}

BD Mycosel Agar e **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide** contengono i nutrienti forniti dai peptoni, mentre l'energia è data dal glucosio.

La cicloeximide viene usata su vari terreni per l'isolamento di miceti patogeni al fine di inibire alcuni funghi non patogeni, come muffe e lieviti saprofitici, ed è particolarmente utile per l'isolamento dei dermatofiti.⁴ La patogenicità dei funghi e le condizioni immunologiche dei pazienti variano, quindi è necessario prestare particolare attenzione quando il terreno con cicloeximide viene usato da solo per l'isolamento dei miceti, perché alcuni funghi opportunistici potrebbero sfuggire all'osservazione.^{5,6}

Il cloramfenicolo è un antibiotico ad ampio spettro che inibisce un'ampia gamma di batteri Gram-negativi e Gram-positivi ma può avere effetto inibente anche su numerosi funghi patogeni.

BD Mycosel Agar e **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide** sono molto simili per composizione e selettività, benché il secondo abbia un pH inferiore; ciò può essere un vantaggio per l'isolamento dei funghi acidotolleranti, ma anche uno svantaggio quando è necessario isolare funghi che prediligono un pH più elevato.

Questi terreni sono usati per l'isolamento dei miceti da campioni clinici o da materiali che si sospetta contengano contaminanti batterici e fungini.

REAGENTI

Formule* per litro di acqua purificata

BD Mycosel Agar		BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide	
Digerito papaico di farina di soia	10,0 g	Digerito pancreatico di caseina	5,0 g
Glucosio	10,0	Digerito peptico di tessuto animale	5,0
Cicloeximide	0,4	Glucosio	40,0
Cloramfenicolo	0,05	Cloramfenicolo	0,05
Agar	15,5	Cicloeximide	0,4
pH	6,9 ± 0,2	Agar	23,5
		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 di colore, essiccamento, incrinature 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 il congelamento e il 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.

CONTROLLO DI QUALITÀ A CURA DELL'UTENTE

Inoculare i campioni rappresentativi con i seguenti ceppi (per informazioni più dettagliate, v. **ISTRUZIONI GENERALI PER L'USO**). Per l'incubazione, v. nota a piè di pagina.

Ceppi	BD Mycosel Agar	BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide
* <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Crescita da buona a eccellente	Crescita da buona a eccellente
*** <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533	Crescita da buona a eccellente	Crescita da buona a eccellente
** <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	Inibizione da parziale a completa	Inibizione da parziale a completa
** <i>Saccharomyces cerevisiae</i> NCPF 1211	Inibizione completa	Inibizione completa
* <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Inibizione completa	Inibizione completa
* <i>Staphylococcus aureus</i> 25923	Inibizione completa	Inibizione completa

Incubazione: *48 h / **3 – 4 giorni / ***5 – 7 giorni, a 25 – 30 °C, aerobicamente.

PROCEDURA

Materiali forniti

BD Mycosel Agar o **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide**, su piastre impilate **Stacker** da 90 mm. Microbiologicamente controllate.

Materiali non forniti

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

Tipi di campioni

I prodotti qui descritti sono terreni di isolamento per funghi patogeni ottenuti in prevalenza da campioni dermatologici (v. anche **PERFORMANCE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA**).

Procedura del test

Strisciare il campione appena ricevuto in laboratorio su **BD Mycosel Agar** o **BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide**. La piastra strisciata è utilizzata prevalentemente per isolare le colture pure dai campioni contenenti flora mista. In alternativa, se il materiale in coltura proviene direttamente da un tampone, rotolare il tampone su una piccola area del bordo e strisciare da questa zona inoculata.

- Se il campione è costituito da squame epidermiche, peli o unghie, porre il materiale al centro del terreno di coltura. Per agevolare il contatto con il terreno, premere leggermente le particelle più grandi sulla superficie usando pinze sterili.

- Per l'isolamento dei funghi che causano micosi sistemiche, inoculare due set di terreni e metterli in incubazione, uno a 25 – 30 °C e l'altro a 35 – 37 °C.
- Si consiglia di aggiungere una piastra di **BD Sabouraud Glucose Agar** per fornire un'indicazione su tutti i patogeni fungini presenti nel campione.
- Infine, per avere un'indicazione sui batteri patogeni presenti nel campione, inoculare anche un terreno non selettivo, come agar Columbia con 5% di sangue di montone.

Per l'identificazione dei lieviti (come *Candida* spp.) nei campioni clinici, incubare per 48 h a 30 – 35 °C. Se si sospetta la presenza di funghi filamentosi, dermatofiti compresi, incubare a 25 – 30 °C per una settimana al massimo. In alcuni casi, i dermatofiti possono richiedere anche più di 3 settimane per svilupparsi. Se l'incubazione dura più di 3 giorni, mantenere un adeguato livello di umidità. Le piastre possono essere sigillate con nastro adesivo per evitare l'essiccamento.

Risultati

Dopo un adeguato periodo di incubazione, le piastre possono mostrare colonie isolate nelle aree strisciate e crescita convergente nelle aree di inoculazione pesante.

Ricerchare sulle piastre le colonie di funghi che mostrano la tipica colorazione e morfologia. Confermare i risultati con test biochimici e procedure microscopiche e sierologiche.⁴⁻⁷

Considerando l'ampio numero di funghi, il loro aspetto non viene trattato in questa sede. Consultare la bibliografia.³⁻⁹

PERFORMANCE E LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Questi terreni sono utilizzati per isolare funghi patogeni da campioni caratterizzati da una ricca flora contaminante. A causa del lungo periodo di incubazione necessario per l'isolamento dei dermatofiti (con conseguente crescita di contaminanti indesiderati su basi meno selettive), i terreni si rivelano particolarmente utili per l'isolamento di miceti, come *Trichophyton* e *Microsporium* spp. e diversi altri, dalle infezioni cutanee. I terreni, inoltre, possono essere usati per l'isolamento di *Candida albicans* e numerose altre specie di *Candida*.

Alcuni funghi patogeni possono essere inibiti dagli agenti antimicrobici di questo terreno.

Pertanto, inoculare anche **BD Sabouraud Glucose Agar** se si utilizzano terreni contenenti cloramfenicolo e/o cicloeximide.

Le muffe (ad es., *Aspergillus* spp.) e diverse specie di lieviti non sono considerate patogene, ma in alcuni casi possono causare infezioni, in particolare nei pazienti immunocompromessi o gravemente malati. In genere, questi funghi non crescono su terreni contenenti cicloeximide. È quindi necessario aggiungere terreni per funghi privi di questo inibitore.

A causa dell'ampia varietà di temperature di crescita dei funghi, può essere necessario inoculare più piastre e incubarle a varie temperature. Consultare la sezione **Procedura del test** e le relative voci della bibliografia.⁵⁻⁹

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

BIBLIOGRAFIA

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 trichophytons 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, 8thed. 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.

CONFEZIONE/DISPONIBILITÀ

BD Mycosel Agar

N. di cat. 254417 Terreni su piastra pronti all'uso, confezioni da 20

BD Sabouraud Agar with Chloramphenicol and Cycloheximide

N. di cat. 255504 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, logo, Mycosel, Mycophil and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2003 Becton, Dickinson and Company