

PROCEDURE DI CONTROLLO DI QUALITÀ (Facoltativo)

I INTRODUZIONE

Mycosel Agar è un supporto selettivo per l'isolamento di miceti patogeni provenienti da materiali aventi una flora variegata di altri miceti e batteri.

II PROCEDURA DEL TEST

1. Inoculare i campioni rappresentativi con le colture sotto elencate.
 - a. Inoculare nei contenitori un'ansa calibrata da 0,01 mL servendosi di colture fungine in brodo (età massima 7 giorni) dei miceti e diluizioni 10^{-1} di colture di 18 – 24 h del ceppo di *Escherichia*.
 - b. Incubare i contenitori (con i tappi non completamente avvitati) a 25 ± 2 °C in atmosfera aerobica.
 - c. Includere gli slant di Sabouraud Dextrose Agar come controlli non selettivi per tutti i ceppi fungini e gli slant di **Trypticase Soy Agar** come controlli di crescita per i ceppi di *Escherichia*.
2. Esaminare la crescita e la selettività nei contenitori per un massimo di 7 giorni.
3. Risultati attesi

Organismi di controllo CLSI (ATCC Strains)

* <i>Candida albicans</i> (10231)	Crescita
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (9533)	Crescita
* <i>Escherichia coli</i> (25922)	Inibizione (da parziale a completa)
* <i>Aspergillus niger</i> (16404)	Inibizione (da parziale a completa)

Ceppi supplementari utilizzati:

<i>Penicillium roquefortii</i> ATCC 9295	Inibizione (parziale)
---	-----------------------

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

III CONTROLLO DI QUALITÀ SUPPLEMENTARE

1. Esaminare le provette, le bottiglie, i flaconi o le bottiglie **Mycoflask** come descritto in "Deterioramento del prodotto".
2. Eseguire un esame visivo delle provette, le bottiglie, i flaconi o le bottiglie **Mycoflask** rappresentativi per garantire che l'eventuale presenza di difetti fisici non interferisca con l'uso.
3. Incubare a 20 – 25 °C e a 30 – 35 °C le provette, le bottiglie, i flaconi o le bottiglie **Mycoflask** rappresentativi non inoculate ed esaminarle dopo 7 giorni per verificare la contaminazione microbica.

INFORMAZIONI SUL PRODOTTO

IV USO PREVISTO

Mycosel Agar è un supporto altamente selettivo contenente cicloesimide e cloramfenicolo. Si consiglia per l'isolamento di miceti patogeni da materiali aventi una flora lussureggiante di altri miceti e batteri.^{1,2}

V SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Mycosel Agar è stato sviluppato utilizzando gli ingredienti di **Mycophil Agar** come base nutritiva alla quale sono stati aggiunti come agenti selettivi cicloesimide e cloramfenicolo. Il suo utilizzo è diffuso per l'isolamento di miceti da una varietà di sorgenti, ed è consigliabile per il recupero di dermatofiti.³

VI PRINCIPI DELLA PROCEDURA

Le proprietà nutritive di **Mycosel Agar** derivano dal peptone preparato da farina di soia. Il destrosio è una fonte di energia per il metabolismo dei miceti. Il cicloesimide inibisce la maggior parte delle muffe saprofitiche. Il cloramfenicolo è un antibiotico ad ampio spettro che inibisce un vasto range di batteri gram-positivi e gram-negativi.

VII REAGENTI

Mycosel Agar

Formula approssimata* per L di acqua purificata

Digerito papaiico di farina di soia	10,0	g
Destrosio	10,0	g
Agar	15,5	g
Cicloeximide	0,4	g
Cloramfenicolo	0,05	g

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

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Aprire con estrema cautela le provette, le bottiglie ed i flaconi 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 i virus 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".⁶⁻⁹ Dopo l'uso, i supporti preparati, i contenitori dei campioni e gli altri materiali contaminati devono essere sterilizzati in autoclave prima dello smaltimento.

Istruzioni per la conservazione

Al ricevimento, conservare le provette, le bottiglie ed i flaconi al buio a 2 – 8 °C. Evitare di congelare e surriscaldare. Aprire soltanto al momento dell'uso. Ridurre al minimo l'esposizione alla luce. I terreni conservati come indicato sull'etichetta sino al momento dell'uso, possono essere inoculati fino alla data di scadenza e incubati per i tempi di incubazione raccomandati. Prima dell'inoculo, attendere che il terreno si porti a temperatura ambiente.

Deterioramento del prodotto

Non usare i supporti se presentano tracce di contaminazione microbica, alterazione di colore, essiccamento o altri segni di deterioramento.

VIII RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

I campioni idonei per coltura possono essere manipolati con varie tecniche. Per informazioni specifiche, consultare i testi opportuni.¹⁻³ Raccogliere i campioni prima della somministrazione di antibiotici. Predisporre una consegna tempestiva al laboratorio.

IX PROCEDURA

Materiale fornito

Mycosel 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 aseptiche.

Strisciare il campione non appena possibile dopo il ricevimento in laboratorio. Strisciare il campione sul supporto con un'ansa da inoculazione sterile per ottenere colonie isolate. Per informazioni sulla lavorazione e inoculazione dei campioni, consultare i riferimenti opportuni.¹⁻³

Per l'isolamento di miceti da campioni potenzialmente contaminati, è necessario inoculare un supporto non selettivo insieme ad un supporto selettivo. Incubare i contenitori a 25 – 30 °C aumentando l'umidità.

Per l'isolamento di miceti causa di micosi sistemiche, è necessario inoculare due set di supporti, di cui un set verrà incubato a 25 – 30 °C ed un duplicato del set a 35 ± 2 °C. In tutte le colture, con scadenza almeno settimanale, andrà ricercata la crescita fungina, continuando per 4 – 6 settimane prima di registrare il risultato come negativo.

Controllo di qualità a cura dell'utente

Vedere "Procedure di controllo di qualità".

Ciascun lotto di terreno è stato testato utilizzando organismi per il controllo di qualità appropriati, e tali test soddisfano le specifiche di prodotto e gli standard CLSI, ove opportuno. Come di consueto, i test di controllo qualità devono essere eseguiti in ottemperanza alle normative locali, statali, federali o nazionali vigenti, nonché ai requisiti di certificazione e/o alle procedure standard di controllo di qualità del laboratorio specifico.

X RISULTATI

Dopo una sufficiente incubazione, il supporto deve mostrare colonie isolate in aree strisciate e crescita confluyente in aree di inoculazione sostenuta.

Esaminare nei contenitori le colonie fungine che presentano colori e morfologie tipiche.⁸ I riscontri devono essere confermati con test biochimici e procedure sierologiche.

XI LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Alcuni miceti possono essere inibiti per mezzo di antibiotici in questo supporto.⁹

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.^{1-3,8,9}

XII PERFORMANCE

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di slant, flaconi e bottiglie di **Mycosel Agar**. Utilizzando un'ansa calibrata da 0,01 mL, vengono inoculati per striscio, in campioni rappresentativi del lotto, colture fungine in brodo di *Candida albicans* (ATCC 10231), *Penicillium roquefortii* (ATCC 9295), *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), una sospensione di spore di *Aspergillus niger* (ATCC 16404) diluita ad una concentrazione finale di 50 a 300 unità di formazione della colonia (UFC) per ogni presa d'ansa ed una coltura di **Trypticase Soy Broth** diluita 10⁻¹ di *Escherichia coli* (ATCC 25922). Dopo l'inoculazione, i contenitori vengono incubati a 25 ± 2 °C e vengono letti i risultati della crescita e della pigmentazione della colonia dopo 2, 5 e 7 giorni di incubazione. *C. albicans* evidenzia una crescita da lieve a sostenuta con colonie di colore da bianco a crema. *T. mentagrophytes* evidenzia crescita da lieve a sostenuta con colonie bianche. La crescita di *P. roquefortii*, *A. niger* e *E. coli* è lieve o del tutto inibita.

XIII DISPONIBILITÀ

N. di cat.	Descrizione
220966	BD BBL Mycosel Agar Slants , confezione da 10 provette di misura A
220967	BD BBL Mycosel Agar Slants , scatola da 100 provette di misura A
221130	BD BBL Mycosel Agar , bottiglie Mycoflask , confezione da 10

XIV RIFERIMENTI

1. Weitzman, Kane and Summerbell. 1995. 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.
2. Kwon-Chung, K.J., and J.E. Bennett. 1992. Medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
3. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
4. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, 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. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th 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 risks related to exposure to 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. 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.
9. Larone. 1995. Medically important fungi: a guide to identification, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

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 all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD