



## BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

### NAMENA

Podloga **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)** (Agar BD Sabouraud GC / podloga CHROMagar Candida [dvostruka pločica]) se koristi za selektivnu izolaciju gljivica i za izolaciju i identifikaciju *Candida albicans*, *C. tropicalis* i *C. krusei* iz kliničkih uzoraka.

### PRINCIPI I OBJAŠNJENJE PROCEDURE

Mikrobiološka metoda.

Sabouraud agar sa glukozom je široko korišćena podloga koja je, zbog svoje niske pH vrednosti i visoke koncentracije glukoze, delimično selektivna za gljivice. Pošto mnoge bakterije tolerišu nisku pH vrednost i visoku koncentraciju glukoze i mogu da rastu na Sabouraud agaru, naročito tokom produženog perioda inkubacije koji je često neophodan za izolaciju gljivica, razvijeno je nekoliko formulacija koje sadrže antibakterijske inhibitore. Dokazano je da su antimikrobne supstance poput penicilina, hloramfenikola, aminoglikozida ili njihove kombinacije efikasni u inhibiciji bakterija bez uticaja na rast gljivica.<sup>1-6</sup>

U Sabouraud GC agaru peptoni su izvori azota. Glukoza (= dekstroza) predstavlja izvor energije za rast gljivica. Hloramfenikol i gentamicin su antibiotici širokog spektra koji inhibiraju širok opseg gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija.

**CHROMagar Candida Medium** je selektivna i diferencijalna podloga za izolaciju gljivica. Sa uključivanjem hromogenih supstrata u podlogu, kolonije *C. albicans*, *C. tropicalis* i *C. krusei* proizvode različite boje, što omogućava direktnu detekciju ovih vrsta kvasaca na izolacionoj pločici.<sup>7-12</sup> Kolonije *C. albicans* su svetle do srednje zelene, kolonije *C. tropicalis* su plavozelenkaste do metalik plave, a kolonije *C. krusei* su svetloroze sa beličastom ivicom. Druge vrste kvasaca mogu da razviju bilo svoju prirodnu boju (krem), bilo roze ili svetlo do tamno ljubičastu (npr. *Candida [Torulopsis] glabrata* i druge vrste). Još jedna prednost ove podloge je lako otkrivanje pomešanih kultura kvasaca jer se njihove kolonije pojavljuju u različitim bojama.<sup>7,9-12</sup>

Posebno izabrani peptoni obezbeđuju hranljive materije u podlozi **CHROMagar Candida Medium**. Ova specijalno razvijena hromogena mešavina se sastoji od veštačkih supstrata (hromogena), koji oslobađaju različito obojena jedinjenja nakon degradacije specifičnim enzimima. Ovo omogućava diferencijaciju određenih vrsta ili otkrivanje određenih grupa organizama, uz upotrebu minimalnog broja testova za potvrdu. Hloramfenikol inhibira većinu bakterijskih kontaminanata. Titanijum dioksid je dodat da bi se ova podloga razlikovala od Sabouraud GC agara.

Podlogu **CHROMagar Candida Medium** je razvio A. Rambach, a prodaje je kompanija BD Diagnostic Systems na osnovu licencnog ugovora sa kompanijom CHROMagar, Pariz, Francuska.

## REAGENSI

Formule\* po litru prečišćene vode

| Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol |       | CHROMagar Candida Medium |        |
|----------------------------------------------------|-------|--------------------------|--------|
| Proizvod pankreasnog varenja kaseina               | 5,0 g | Hromopepton              | 10,0 g |
| Proizvod peptičnog varenja životinjskog tkiva      | 5,0   | Glukoza                  | 20,0   |
| Glukoza                                            | 40,0  | Hromogena mešavina       | 2,0    |
| Agar                                               | 15,0  | Hloramfenikol            | 0,5    |
| Gentamicin                                         | 0,04  | Titanijum dioksid        | 0,35   |
| Hloramfenikol                                      | 0,4   | Agar                     | 15,0   |
| pH vrednost 5,6 +/- 0,3                            |       | pH vrednost 6,0 +/- 0,3  |        |

\*Prilagođava se i/ili dopunjava prema potrebi da bi se zadovoljili kriterijumi funkcionisanja.

## MERE OPREZA

**IVD** . Samo za profesionalnu upotrebu. ⓧ

Ne koristite pločice ako su vidljivi znakovi kontaminacije mikrobima, promene boje, sušenja, pucanja ili ostali znakovi pogoršanja kvaliteta.

U dokumentu **OPŠTA UPUTSTVA ZA UPOTREBU** možete naći procedure za aseptično rukovanje, biološke opasnosti i uklanjanje iskorišćenog proizvoda.

## ČUVANJE I VEK TRAJANJA

Po prijemu, pa do trenutka upotrebe, čuvajte pločice **na tamnom mestu** na temperaturi od 2 °C do 8 °C u originalnom pakovanju. Nemojte da zamrzavate ili pregrevate proizvod. Pločice mogu da se inokulišu do isteka roka trajanja (pogledajte nalepnicu na pakovanju) i inkubiraju onoliko puta koliko se preporučuje.

Pločice iz otvorenih pakovanja od 10 komada mogu da se koriste nedelju dana ukoliko se čuvaju na čistom mestu na temperaturi od 2 °C do 8 °C.

Smanjite izloženost svetlu pre i tokom inkubacije, pošto svetlost može da uništi hromogene.

## KORISNIČKA KONTROLA KVALITETA

Inokulišite reprezentativne uzorke sledećim sojevima (pogledajte dokument **OPŠTA UPUTSTVA ZA UPOTREBU** za više informacija). Inkubirajte pločice u aerobnim uslovima od 20 do 48 sati na temperaturi od 35 °C +/- 2 °C.

| Sojevi                                      | Sabouraud GC agar                                      | CHROMagar Candida Medium                                                                                                      |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <i>Candida albicans</i><br>ATCC 60193       | Dobar do odličan rast; bele kolonije                   | Dobar do odličan rast; svetle do srednje zelene kolonije                                                                      |
| <i>Candida krusei</i><br>ATCC 34135         | Dobar do odličan rast; bele do kremaste ravne kolonije | Dobar do odličan rast; svetlo roze do ružičaste ravne kolonije sa beličastom ivicom                                           |
| <i>Candida tropicalis</i><br>ATCC 1369      | Dobar do odličan rast; bele do kremaste kolonije       | Dobar do odličan rast; sivoplave do plavozelenkaste ili metalikplave kolonije sa ili bez ljubičastog oreola u okolnoj podlozi |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i><br>ATCC 27853 | Delimična do potpuna inhibicija                        | Delimična do potpuna inhibicija                                                                                               |
| * <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404       | Dobar do odličan rast                                  | Dobar do odličan rast                                                                                                         |
| Nije inokulisano                            | Svetlo žute, bistre                                    | Mlečnobela, neprozirna                                                                                                        |

\* može da se inkubira najviše 4 dana

## PROCEDURA

### Obezbeđeni materijal

**BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium** (dvostruke pločice **Stacker** od 90 mm). Mikrobiološki kontrolisano.

Za diferencijaciju dve podloge ove dvostruke pločice, podloga CHROMagar Candida Medium sadrži titanijum dioksid (pogledajte formulu) zbog čega je podloga mlečnobela i neprozirna, dok je Sabouraud GC agar proziran.

### Materijal koji nije obezbeđen

Podloge za dodatne kulture, reagensi i laboratorijska oprema prema potrebi.

### Tipovi uzoraka

Podloga u ovoj dvostrukoj pločici se koristi za izolaciju gljivica i za izolaciju i identifikaciju *Candida albicans*, *C. tropicalis* i *C. krusei* iz svih tipova kliničkih uzoraka (pogledajte i odeljak **KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA I OGRANIČENJA PROCEDURE**).

### Postupak ispitivanja

Razmažite uzorak ili kulturu za izolaciju na površinu svake podloge. Ukoliko se uzorak tretira kulturom direktno iz tupfera, nežno protrljajte tupfer preko malog dela površine svake pločice na ivici, a zatim omčom izvucite pruge iz ovih oblasti. Inkubirajte pločice u aerobnim uslovima na temperaturi od 35 °C +/- 2 °C. U najvećoj mogućoj meri smanjite izloženost svetlu pre i tokom inkubacije. Očitajte podlogu CHROMagar Candida Medium nakon 42 do 48 sati. Pošto je nekim spororastućim nitastim gljivicama potrebna duža inkubacija, vratite pločicu u inkubator do četvrtog dana ili duže. Nakon ovog vremena proverite da li na Sabouraud GC agaru ima dodatnih izolata koji još nisu pronađeni na podlozi **CHROMagar Candida Medium**, ali ne očitavajte podlogu **CHROMagar Candida Medium** ponovo nakon produženog vremena inkubacije. Izolati na Sabouraud GC agaru moraju dodatno da se diferenciraju radi potpune identifikacije.<sup>3-6</sup> Povremeni izolati, kao što su *Cryptococcus neoformans* i nitaste gljivice, zahtevaju duže vreme inkubacije, a moguće i niže temperature inkubacije. Stoga se preporučuje da inokulirate pločicu **BD Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol** uzorkom i da je inkubirate na temperaturi od 25 °C do 30 °C, ukoliko očekujete gljivice koje zahtevaju nižu temperaturu inkubacije.

### Rezultati

Nakon dovoljnog perioda inkubacije pregledajte da li su se na Sabouraud GC agaru pojavile kolonije gljivica tipične boje i morfologije. Treba da obavite biohemijske testove i mikroskopske i serološke procedure za potpunu identifikaciju izolata.<sup>3-6</sup>

**CHROMagar Candida Medium**: preporučuje se da očitete ovu podlogu na beloj pozadini.

Ukoliko je prisutna vrsta *Candida*, kolonije će se pojaviti u svetloj do srednje zelene boje (*C. albicans*), svetloroze do ružičaste sa beličastom ivicom (*C. krusei*) ili plavozelenkaste do metalikplave sa ili bez ljubičastog oreola (*C. tropicalis*). Ostale vrste *Candida* i drugi kvasci imaju svetlo do tamno ljubičastu boju (roze ili ljubičasta) ili, u slučaju da se ne koriste hromogeni supstrati, poprimaju svoju prirodnu boju kolonije (krem do bela).

Podaci iz različitih studija ukazuju da nisu neophodni dodatni testovi za identifikaciju za *Candida albicans*, *C. tropicalis* i *C. krusei*.<sup>7,9-11</sup>

Kolonije svetloroze do tamnoroze boje ili svetloljubičaste do tamnoljubičaste boje ili kolonije koje se pojavljuju u svojoj prirodnoj krem boji moraju da se identifikuju korišćenjem standardnih metoda.<sup>7-11</sup>

### KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA I OGRANIČENJA PROCEDURE

Podloga **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)** koristi se za selektivnu izolaciju gljivica (Sabouraud GC agar) i za izolaciju i identifikaciju *C. albicans*, *C. krusei* i *C. tropicalis* (podloga **CHROMagar Candida Medium**).

Agar Sabouraud GC spada u konvencionalne podloge koje imaju široku upotrebu u selektivnoj izolaciji gljivica. Izolati iz ove podloge moraju dalje da se diferenciraju korišćenjem klasičnih procedura za identifikaciju gljivica.<sup>1-6</sup>

*Nocardia* i *Actinomyces* su nitaste bakterije (ne gljivice!), pa zato ne rastu na Sabouraud podlozi koja sadrži inhibitore bakterija.

Detaljne informacije i preporučene procedure za identifikaciju izolata potražite u odgovarajućim referentnim materijalima.<sup>3-6,8</sup>

Korišćenje podloge **CHROMagar Candida Medium** za identifikaciju *C. albicans*, *C. krusei* i *C. tropicalis* zabeleženo je u nekoliko studija i priručnika u kojima takođe možete pronaći dodatne informacije o preporučenim procedurama.<sup>7,9-12</sup> Rezultate nedavne procene performansi podloge **BD CHROMagar Candida Medium** su zabeležili Jabra-Rizk i saradnici.<sup>11</sup>

*Candida (Torulopsis) glabrata* obično proizvodi svetloljubičaste do tamnoljubičaste kolonije na ovoj podlozi.<sup>9</sup> Preporučuje se, međutim, da se organizmi koji se pojavljuju u ovoj boji potvrde dodatnim biohemijskim testovima pošto ovu boju kolonije mogu da proizvedu različite vrste kvasca.

Kolonije koje se pojavljuju u roze boji ili svetloljubičastoj do tamnoljubičaste boje ili kolonije koje se pojavljuju u svojoj prirodnoj krem boji na ovoj podlozi moraju da se identifikuju korišćenjem standardnih metoda.<sup>3-5</sup>

Gljivice koje nisu kvasci mogu da se izoluju i na ovoj podlozi ukoliko su trajanje i temperatura inkubacije odgovarajući za ove organizme.

Pošto nitaste gljivice mogu da metabolišu hromogene supstrate, boje koje ovi organizmi pokazuju na podlozi **CHROMagar Candida Medium** mogu da se razlikuju od onih koje se prikazuju na drugim gljivičnim podlogama. Nemojte da koristite pojavu rasta nitastih gljivica na ovoj podlozi za tradicionalnu morfološku identifikaciju.

Zabeleženo je da *C. dubliniensis* proizvodi karakterističnu tamnozelenu boju na primarnoj izolaciji sa podlogom **CHROMagar Candida Medium**.<sup>13-15</sup> Potkultura, međutim, možda ne sadrži to svojstvo. Neophodne su dodatne fenotipske i genotipske provere za potvrdu *C. dubliniensis*. Možete da koristite jednostavne fenotipske testove, npr. rast izolata na 45 °C (*C. dubliniensis*: negativno; *C. albicans*: pozitivno) za diferencijaciju ove dve vrste.<sup>12</sup>

Pre prvog korišćenja podloge **BD CHROMagar Candida Medium** preporučujemo da se obučite o uobičajenom izgledu kolonije sa definisanim sojevima *C. albicans*, *C. krusei* i *C. tropicalis*, npr. sojevima pomenutim u odeljku **KORISNIČKA KONTROLA KVALITETA**. Nekoliko nitastih gljivica zahteva niže temperature inkubacije od onih potrebnih za podlogu **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)**. Inkubacija ove dvostruke pločice pri temperaturama nižim od 35 °C može, međutim, da odloži hromogene reakcije na podlozi **CHROMagar Candida Medium**.

## REFERENCE

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, Microsporum, 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.

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. Tenenbaum (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. Tenenbaum (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. Goossens. 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.

## PAKOVANJE/DOSTUPNOST

### BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

Kat. br. 254515

Pločaste podloge spremne za upotrebu, 20 kom.

Kat. br. 257663

Pločaste podloge spremne za upotrebu, 120 kom.

## DODATNE INFORMACIJE

Tehnička služba: obratite se lokalnom predstavniku kompanije BD ili [www.bd.com](http://www.bd.com).



### Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8-12

D-69126 Heidelberg/Germany

Tel: +49-62 21-30 50 Faks: +49-62 21-30 52 16

[Reception\\_Germany@europe.bd.com](mailto:Reception_Germany@europe.bd.com)

<http://www.bd.com>

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

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

All other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company

© 2014 BD