

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

NAMJENA

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

NAČELA I OBJAŠNJENJE POSTUPKA

Mikrobiološka metoda.

Agar Sabouraud s glukozom podloga je široke primjene koja je, zbog svoje niske pH vrijednosti i visoke koncentracije glukoze, djelomično selektivna za gljivice. Budući da veliki broj bakterija tolerira nisku pH vrijednost i visoku koncentraciju glukoze, a rastu na agaru Sabouraud, posebice za vrijeme razdoblja produljene inkubacije koji je često potreban za izolaciju gljivica, razvijeno je nekoliko formulacija koje sadrže antibakterijske inhibitore. Protumikrobni agensi kao što su penicilin, kloramfenikol, aminoglikozidi ili njihova kombinacija, pokazali su se učinkovitima u inhibiciji bakterija, a da pritom nisu utjecali na rast gljivica.¹⁻⁶

U GC agaru Sabouraud peptoni predstavljaju izvor dušika. Glukoza (=dekstroza) predstavlja izvor energije za rast gljivica. Kloramfenikol i gentamicin antibiotici su širokog spektra koji služe kao inhibitori za veliku količinu gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija.

Podloga CHROMagar Candida selektivna je i diferencijalna podloga za izolaciju gljivica.

Umetanjem kromogenih supstrata u podlogu kolonije *C. albicans*, *C. tropicalis* i *C. krusei* stvaraju različite boje i na taj način dopuštaju izravno otkrivanje ove vrste kvasca na izolacijskoj pločici.⁷⁻¹² Kolonije *C. albicans* pojavljuju se svijetlozelene do srednjezelene boje, kolonije *C. tropicalis* plavo-zelenkaste do metalik plave boje, a kolonije *C. krusei* svijetloružičaste s bjelkastim rubom. Ostale vrste kvasca mogu razviti ili svoju prirodnu boju (kremastu) ili biti svijetloružičaste ili svijetloljubičaste do tamnoljubičaste boje [npr. *Candida (Torulopsis) glabrata* i ostale vrste]. Dodatna prednost podloge jednostavno je otkrivanje miješanih podloga kvasca zbog njihovog pojavljivanja u kolonijama različitih boja.^{7,9-12}

Posebno odabrani peptoni opskrbljuju podlogu **CHROMagar Candida Medium** hranjivim tvarima. Zaštićena mješavina kromogena sastoji se od umjetnih supstrata (kromogena) koji otpuštaju različito obojene spojeve nakon raspadanja pod utjecajem posebnih enzima. Ovo dopušta diferencijaciju određenih vrsta ili otkrivanje određenih grupa organizama uz minimalnu količinu potvrdnih ispitivanja. Kloramfenikol inhibira većinu bakterijskih kontaminata. Titan dioksid dodan je radi diferencijacije ove podloge od **Sabouraud GC Agar**.

Podlogu **CHROMagar Candida Medium** razvio je A. Rambach, a prodaje je tvrtka BD Diagnostic Systems na temelju licencnog ugovora sklopljenog s CHROMagarom, Pariz, Francuska.

REAGENSI

Formule* po litri pročišćene vode

Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol		CHROMagar Candida Medium	
Pankreatična digestija kazeina	5,0 g	Kromopepton	10,0 g
Peptična digestija životinjskog tkiva	5,0	Glukoza	20,0
Glukoza	40,0	Kromogenska mješavina	2,0
Agar	15,0	Kloramfenikol	0,5
Gentamicin	0,04	Titan dioksid	0,35
Kloramfenikol	0,4	Agar	15,0
pH 5,6 +/- 0,3		pH 6,0 +/- 0,3	

*Prilagođeno i/ili dodano prema potrebi kako bi se udovoljilo kriterijima učinkovitosti.

MJERE OPREZA

IVD. Samo za profesionalnu primjenu. 

Ne upotrebljavajte pločice ako su vidljivi znakovi kontaminacije mikrobima, promjena boje, sušenje, pucanje ili ostali znakovi pogoršanja kvalitete.

Pogledajte dokument **OPĆE UPUTE ZA UPOTREBU** o postupcima aseptičnog rukovanja, biološkim opasnostima i odlaganju iskorištenog proizvoda.

ČUVANJE I ROK VALJANOSTI

Po primitku pohranite pločice **na tamnom mjestu** pri temperaturi od 2 – 8°C u originalnom pakiranju do trenutka upotrebe. Pazite da ne dođe do smrzavanja i pregrijavanja. Pločice se mogu inokulirati do datuma isteka valjanosti (pogledajte naljepnicu na pakiranju) te inkubirati tijekom preporučenih rokova inkubacije.

Pločice iz otvorenih pakiranja po 10 pločica mogu se koristiti tjedan dana ako se čuvaju na čistom mjestu pri temperaturi od 2 – 8°C.

Smanjite izloženost svjetlu prije i tijekom inkubacije jer svjetlost može uništiti kromogene.

KORISNIČKA KONTROLA KVALITETE

Inokulirajte reprezentativne uzorke sa sljedećim sojevima (detalje potražite u dokumentu **OPĆE UPUTE ZA UPOTREBU**). Pločice inkubirajte aerobno tijekom 20 – 48 sati pri temperaturi od 35 ± 2°C.

Sojevi	Sabouraud GC Agar	CHROMagar Candida Medium
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Dobar do odličan rast, bijele kolonije	Dobar do odličan rast; svijetlozelene do srednjezelene kolonije
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	Dobar do odličan rast; bijele do kremaste plosnate kolonije	Dobar do odličan rast; svijetloružičaste do ružičaste plosnate kolonije s bjelkastim rubom
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 1369	Dobar do odličan rast; bijele do kremaste kolonije	Dobar do odličan rast; sivo plave do plavo-zelenkastih ili metalik plave kolonije s ljubičastim vijencem ili bez njega u okolnoj podlozi
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Djelomična do potpuna inhibicija	Djelomična do potpuna inhibicija
* <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	Dobar do odličan rast	Dobar do odličan rast
Nije inokulirano	Svijetložuti, proziran	Mliječno bijela, neprozirna

* može se inkubirati najviše 4 dana

POSTUPAK

Priloženi materijal

BD Sabouraud GC Agar / Podloga CHROMagar Candida (dvostruke ploče **Stacker** od 90 mm) Mikrobiološki kontrolirano.

Radi diferencijacije dviju podloga ove dvostruke ploče, **CHROMagar Candida Medium** sadrži titan oksid (pogledajte formulu) zbog čega je podloga mliječno bijela i neprozirna, dok je **Sabouraud GC Agar** proziran.

Materijal koji nije priložen

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

Vrste uzoraka

Podloge u ovoj dvostrukoj ploči koriste se za izolaciju gljivica te za izolaciju i identifikaciju *Candida albicans*, *C. tropicalis* i *C. krusei* iz svih vrsta kliničkih uzoraka (pogledajte također **RADNA SVOJSTVA I OGRANIČENJA POSTUPKA**).

Postupak ispitivanja

Razmažite uzorak ili staničnu kulturu za izolaciju na površinu svake podloge. Ako se uzorak nanosi izravno štapićem, nježno protrljajte štapić na rubu manjeg područja svake površine, a zatim ga razmažite s tih površina mikrobiološkom petljom. Inkubirajte pločice aerobno pri temperaturi od 35 +/- 2°C. Smanjite izloženost svjetlu prije i tijekom inkubacije. Očitajte podlogu **CHROMagar Candida Medium** po isteku razdoblja od 42 do 48 sati. Budući da nekim sporo rastućim nitastim gljivicama može trebati dulje vrijeme inkubacije, vratite pločicu u inkubator do 4. dana ili dulje. Po isteku tog vremena ispitajte ima li na **Sabouraud GC Agar** dodatnih izolata koji još nisu pronađeni na podlozi **CHROMagar Candida Medium**, ali ne očitavajte podlogu **CHROMagar Candida Medium** ponovno nakon produljenog razdoblja inkubacije. Izolate na GC agaru Sabouraud treba dalje diferencirati za kompletnu identifikaciju.³⁻⁶ Povremeni izolati, poput *Cryptococcus neoformans* i nitastih gljivica, zahtijevaju dulje vrijeme inkubacije i moguće niže temperature inkubacije. Stoga se preporučuje inokulirati pločicu s **BD Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol** uzorkom i inkubirati ovu pločicu pri temperaturi od 25 – 30°C, u slučaju da se očekuju gljivice koje zahtijevaju nižu temperaturu inkubacije.

Rezultati

Po isteku određenog vremena inkubacije ispitajte jesu li se na **Sabouraud GC Agar** pojavile kolonije gljivica tipične boje i morfologije. Treba provesti biokemijska ispitivanja i mikroskopske i serološke postupke radi potpune identifikacije izolata.³⁻⁶

CHROMagar Candida Medium: ovu je podlogu preporučeno očitati na bijeloj pozadini. U slučaju da su prisutne vrste *Candida*, pojavljuju se kolonije svijetlozelene do srednjezelene boje (*C. albicans*), svijetloružičaste do ružičaste s bjelkastim rubom (*C. krusei*) ili plavo-zelenkaste do metalik plave s ili bez ljubičastog vijenca (*C. tropicalis*). Ostale vrste *Candida* i ostale vrste kvasaca imaju svijetloljubičastu do tamnoljubičastu boju (ružičasta do ljubičasta) ili, u slučaju da se ne koriste kromogeni supstrati, poprimaju svoju prirodnu boju kolonije (kremasta do bijela).

Podaci iz različitih studija ukazuju da daljnja ispitivanja u svrhu identifikacije nisu potrebna za *Candida albicans*, *C. tropicalis* i *C. krusei*.^{7,9-11}

Kolonije svijetloružičaste do tamnoružičaste boje ili svijetloljubičaste do ljubičaste boje, kao i kolonije koje se pojavljuju u svojoj prirodnoj kremastoj boji treba identificirati pomoću standardnih metoda.⁷⁻¹¹

RADNA SVOJSTVA I OGRANIČENJA POSTUPKA

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

Sabouraud GC Agar konvencionalna je podloga široke primjene za selektivnu izolaciju gljivica. Izolate iz ove podloge treba dalje diferencirati korištenjem klasičnih postupaka za identifikaciju gljivica.¹⁻⁶

Nocardia i *Actinomyces* nitaste su bakterije (ne gljivice!) i zbog toga ne rastu na podlogama Sabouraud koje sadrže bakterijske inhibitore.

Detaljne informacije i preporučene postupke za identifikaciju izolata potražite u odgovarajućim referentnim materijalima.^{3-6,8}

Upotreba podloge **CHROMagar Candida Medium** za izravnu identifikaciju *C. albicans*, *C. krusei* i *C. tropicalis* zabilježena je u nekoliko studija i priručnika u kojima možete također pronaći dodatne informacije o preporučenim postupcima.^{7,9-12} Rezultate nedavnog ocjenjivanja učinkovitosti podloge **BD CHROMagar Candida Medium** zabilježili su Jabra-Rizk i suradnici.¹¹

Candida (Torulopsis) glabrata obično proizvodi svijetloljubičaste do tamnoljubičaste kolonije na ovoj podlozi.⁹ Međutim, preporučuje se da se organizmi koji se pojavljuju u ovoj boji potvrde dodatnim biokemijskim ispitivanjima budući da tu boju kolonije može proizvesti nekoliko vrsta kvasca.

Kolonije ružičaste boje ili svijetloljubičaste do tamnoljubičaste boje, kao i kolonije koje se pojavljuju u svojoj prirodnoj kremastoj boji na ovoj podlozi treba identificirati pomoću standardnih metoda.³⁻⁵

Sve ostale gljivice, osim kvasca, mogu se također izolirati na ovoj podlozi ako su inkubirane pri odgovarajućoj temperaturi i na vremenski rok koji je prikladan za ove organizme.

Budući da nitaste gljivice mogu metabolizirati kromogene supstrate, boje koje ovi organizmi pokazuju na podlozi **CHROMagar Candida** mogu se razlikovati od onih koje se prikazuju na drugim gljivičnim podlogama. Ne koristite izgled rasta nitastih gljivica na ovoj podlozi u svrhu tradicionalne morfološke identifikacije.

Zabilježeno je da *C. dubliniensis* proizvodi distinktivno tamnozelenu boju na primarnoj izolaciji s podlogom **CHROMagar Candida**.¹³⁻¹⁵ Međutim, potkultura možda ne sadrži ovo svojstvo. Za potvrdu pojave *C. dubliniensis* potrebna su dodatna fenotipska i genotipska ispitivanja. Za diferencijaciju dvije vrste moguće je koristiti jednostavna fenotipska ispitivanja, primjerice rast izolata pri temperaturi od 45°C (*C. dubliniensis*: negativan; *C. albicans*: pozitivan).¹²

Prije prve upotrebe podloge **BD CHROMagar Candida Medium** preporučuje se obuka o uobičajenom izgledu kolonije s definiranim sojevima *C. albicans*, *C. krusei* i *C. tropicalis*, npr. sojevima spomenutim u **KORISNIČKOJ KONTROLI KVALITETE**.

Nekoliko nitastih gljivica zahtijeva niže temperature inkubacije od one koja je potrebna za **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (dvostruka ploča)**. Međutim inkubacija ove dvostruke ploče pri temperaturama nižim od 35°C može odgoditi kromogene 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, 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. 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. Tenover (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. Tenover (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 dubliensis* 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 dubliensis* isolates in a yeast stock collection. *J. Clin. Microbiol.* 36:2869-2873.

PAKIRANJE/DOSTUPNOST

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

Kat. br. 254515

Pločaste podloge spremne za upotrebu, cpu 20

Kat. br. 257663

Pločaste podloge spremne za upotrebu, cpu 120

DODATNE INFORMACIJE

Dodatne informacije zatražite od lokalnog predstavnika tvrtke 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/>

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

Svi drugi zaštitni znakovi u vlasništvu su tvrtke Becton, Dickinson and Company.

© 2014 BD