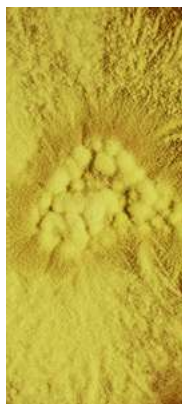


## ISTRUZIONI PER L'USO

# SABOURAUD DEXTROSE AGAR CAF-CEX

Provette pronte all'uso



*Trychophyton mentagrophytes*  
su Sabouraud Dextrose Agar CAF-CEX

### 1 - DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno selettivo per l'isolamento e la coltivazione di dermatofiti e lieviti patogeni da campioni clinici.

### 2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA \*

Digerito pancreatico di caseina	5,00 g
Digerito peptico di carne	5,00 g
Glucosio	40,00 g
Agar	15,00 g
Cloramfenicolo	0,05 g
Cicloesimide	0,5 g
Acqua purificata	1000 mL

\*Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

### 3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Alla fine del 1890, Raymond Jacques Sabouraud riassunse e organizzò le numerose osservazioni sul ruolo dei funghi patogeni nelle infezioni dermatofitiche e propose un terreno di coltura per il loro isolamento e la classificazione.<sup>1,2</sup> Questa formulazione fu denominata Sabouraud medium ed è, ancora oggi, con qualche modifica, il terreno di coltura di routine di base utilizzato per coltivare i funghi nei laboratori clinici.

I componenti del terreno base (Sabouraud Dextrose Agar) sono conformi alle indicazioni della Farmacopea europea<sup>5</sup>. L'aggiunta di cloramfenicolo e di cicloesimide è una modifica studiata per aumentare le proprietà selettive e per migliorare l'isolamento di funghi patogeni, in particolare dermatofiti, da campioni contaminati da batteri e funghi saprofiti.

In seguito alle osservazioni iniziali di Whiffen *et al.*<sup>4</sup>, la cicloesimide si è rivelata utile per aumentare il numero di isolamenti di funghi patogeni da materiali clinici.<sup>5</sup>

Sabouraud Dextrose Agar+CAF+Cycloheximide (SDA CAF-CEX) è particolarmente utile per lo studio di campioni dermatologici nell'ambito della diagnostica delle micosi superficiali e gli organismi target sono i dermatofiti ed alcuni lieviti.<sup>6</sup>

Il peptone di caseina ed il peptone di carne forniscono carbonio, oligoelementi ed azoto sotto forma di peptidi e di aminoacidi necessari alla crescita microbica; il glucosio, ad alte concentrazioni, è una fonte di carbonio e di energia. La selettività del terreno è dovuta al suo pH acido (5,6) ed alla presenza di cloramfenicolo, un antibiotico ad ampio spettro, attivo contro numerosi batteri Gram positivi e Gram negativi e di cicloesimide, un antimicrobico che inibisce i funghi saprofiti a crescita più rapida.<sup>7</sup>

### 4 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto del terreno in provetta	giallo limpido
pH (20-25°C)	5,6 ± 0,2

### 5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Sabouraud Dextrose Agar CAF-CEX	Provette pronte all'uso	552008	20 provette 17x125 mm con fondo piatto e tappo a vite; terreno a becco di clarino. Confezionamento in scatola di cartone.

### 6 - MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Anse e tamponi sterili da microbiologia, termostato e strumentazione di laboratorio, terreni di coltura accessori e reagenti per l'identificazione dei microrganismi.

### 7 - CAMPIONI

Sabouraud Dextrose Agar+CAF+Cycloheximide può essere inoculato direttamente con campioni clinici raccolti da siti contaminati da funghi e batteri saprofiti, principalmente pelle, unghie, capelli. Considerare che la cicloesimide può inibire alcuni funghi opportunisti (vedere Limitazioni del metodo). Consultare la bibliografia citata per i campioni da esaminare in rapporto a specifiche infezioni.<sup>6,8</sup> Sabouraud Dextrose Agar + CAF + Cycloheximide non è adatto per l'inoculo diretto di campioni provenienti da siti normalmente sterili. Quando possibile, raccogliere il campione prima dell'inizio della terapia antimicrobica. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni clinici.<sup>6,8</sup>

### 8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le provette a temperatura ambiente. Inoculare con il materiale appena possibile dopo la sua raccolta. Strisciare il campione con l'ansa sulla superficie del terreno, per disperdere l'inoculo ed ottenere colonie isolate. Per i campioni cutanei, premere leggermente il campione sulla superficie del terreno.

Inoculare ciascun campione in duplicato; incubare un set in condizioni aerobiche a 20-25°C, ed il secondo a 33-37°C.<sup>9</sup>

Per i dermatofiti, esaminare le colture ogni 4-6 giorni per un periodo fino a 20 giorni; per altri funghi incubare 2-5 giorni.

L'utilizzatore è responsabile della scelta del tempo di incubazione, della temperatura e dell'atmosfera appropriata, a seconda del campione in esame, delle esigenze nutrizionali degli organismi da isolare e dei protocolli operativi locali applicabili.

Per l'isolamento dei dermatofiti incubare a 26-30°C ed esaminare le colture ogni 4-6 giorni per un periodo massimo di 21 giorni.<sup>6</sup>





### 9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie e trapiantare su terreni appropriati per ulteriori test di identificazione.

### 10 - CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque facoltà dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.<sup>9</sup>

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE T° / T / ATM	RISULTATI ATTESI
<i>T.mentagrophytes</i> ATCC 9533	26-28°C / 72 H/ A	buona crescita, colonie bianche con morfologia tipica
<i>S.cerevisiae</i> ATCC 9763	26-28°C / 72 H/ A	inibito
<i>E.coli</i> ATCC 25922	26-28°C / 72 H/ A	inibito

A: incubazione in aerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection

### 11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Prima del rilascio alla vendita, campioni rappresentativi di tutti i lotti di provette pronte all'uso di Sabouraud Dextrose Agar CAF-CEX vengono testati per la produttività e la selettività.

La produttività è saggiata inoculando le provette a becco di clarino con diluizioni appropriate dei seguenti ceppi target: *T.mentagrophytes* ATCC 9533 e *C.albicans* ATCC 10231. Dopo incubazione a 26-28°C per un massimo di 72 ore, vengono valutate e registrate la quantità di crescita e le caratteristiche delle colonie. I ceppi target mostrano una buona crescita con colonie bianche e morfologia tipica.

Per valutare la selettività del terreno vengono seminate sul becco di clarino appropriate diluizioni di sospensioni con densità pari a McFarland 0,5 dei ceppi non target *E.coli* ATCC 25922, *A.brasiliensis* ATCC 16404 e *S.cerevisiae* ATCC 9763. La crescita dei ceppi non target è totalmente inibita.

### 12 - LIMITI DEL METODO

- La cicloesimide può inibire alcuni importanti funghi opportunisti come *Fusarium*, *Scopulariopsis*, *Pseudallescheria*, *Trichosporon*, alcune specie di *Aspergillus*, *Talaromyces* (ex *Penicillium*) *marneffeii*, funghi mucoracei, alcuni funghi dematiacei e lieviti come *Cryptococcus* spp. e alcune specie di *Candida*.<sup>7</sup>
- Alcune rare muffe non dermatofitiche (*N.dimidiatum*, *N.hyalinum*, *Hortaea werneckii*) sono in grado di causare lesioni simili ai dermatofiti ma sono inibite dalla cicloesimide. Se si sospetta la possibilità di infezione con queste muffe, il campione deve essere seminato su un terreno privo di cicloesimide.<sup>8</sup>
- Il cloramfenicolo può inibire alcuni funghi patogeni.<sup>10</sup>
- Un singolo terreno è solo raramente sufficiente per recuperare tutti i patogeni contenuti in un campione, pertanto è necessario impiegare terreni sia con che senza agenti inibitori per la semina primaria del campione.
- Le colonie microbiche presenti sulla provetta, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche e morfologiche, devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se pertinente, sottoposte al test di sensibilità agli antibiotici.
- Il terreno di coltura qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati di altri test diagnostici.

### 13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni d'uso specifiche per i prodotti potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it) il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- La singola provetta del prodotto qui descritto è monouso.
- Fare attenzione quando si aprono le provette con tappo a vite per evitare lesioni dovute alla rottura del vetro.
- Il terreno qui descritto è soggetto a sterilizzazione terminale in autoclave.
- Sterilizzare le provette dopo l'uso e prima della loro eliminazione. Smaltire le provette non utilizzate e le provette seminate con i campioni o con i ceppi di controllo in accordo alla legislazione vigente in materia.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito [www.biolifeitaliana.it](http://www.biolifeitaliana.it).
- Comunicare a Biolife Italiana Srl ([complaint@biolifeitaliana.it](mailto:complaint@biolifeitaliana.it)) ed alle Autorità competenti qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione all'uso del diagnostico *in vitro*.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

### 14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare le provette oltre la data di scadenza. Dopo l'apertura della scatola, le provette possono essere utilizzate fino alla data di scadenza. Le provette aperte devono essere utilizzate immediatamente. Prima dell'uso



verificare la chiusura e l'integrità del tappo a vite. Non utilizzare le provette se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione microbica, colore alterato).

#### 15 - BIBLIOGRAFIA

1. Espinel-Ingroff A. History of medical mycology in the United States. *Clin Microbiol Rev* 1966;9:235-272
2. Sabouraud R. Contribution à l'étude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bactériologique sur la pluralité des trichophytons de l'homme. *Ann Dermatol Syphil* 1892; 3:1061-1087.
3. European Pharmacopoeia, current edition.
4. Whiffen AJ, Bonoxos N. Emerson RL. The production of an antifungal antibiotic by *Streptomyces griseus*. *J Bact* 1946; 52: 610-611.
5. Stanley A, Rosenthal D. Furnari BA. The use of cycloheximide-chloramphenicol medium in routine culture of fungi. *J Invest Dermatol* 1957; 28(5):367-71.
6. Public Health England. Investigation of Dermatological Specimens for Superficial Mycoses. UK Standards for Microbiology Investigations. B 39 Issue 3.1, 2016.
7. Lindsley MD. Reagents, stains and media: mycology. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. *Manual of clinical microbiology*, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019
8. Berkow EL, McGowan KL. Specimen collection, transport and processing: mycology. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. *Manual of clinical microbiology*, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
9. Australian Society for Microbiology: Guidelines for assuring quality of medical microbiological culture media. 2nd Ed, July 2012
10. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985

#### TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

<b>REF</b> Numero di catalogo	o <b>REF</b>	<b>LOT</b> Numero di lotto	<b>IVD</b> Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	 Fabbricante	 Non riutilizzare	 Imballaggio riciclabile  Lato superiore
 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Utilizzare entro	 Fragile maneggiare con cura	 Proteggere dalla luce diretta	

#### CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 2	Aggiornamento del contenuto e del layout in accordo a IVDR 2017/746	04/2021
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 3	Rimozione della classificazione obsoleta	04/2023

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

