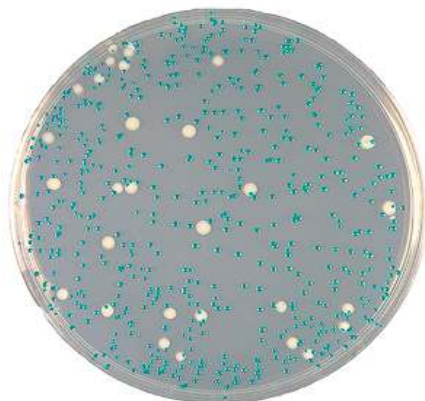


**ISTRUZIONI PER L'USO**
**ChromArt**
**CHROMALBICANS AGAR**

Terreno di coltura in polvere


 Chromalbicans Agar:  
 colonie di *C. albicans* (verde-blu) e di  
*C. tropicalis* (incolori)

**1 - DESTINAZIONE D'USO**

 Diagnostico *in vitro*. Terreno selettivo e cromogeno per l'isolamento di *Candida* spp. da campioni clinici e per la differenziazione di *Candida albicans* e *Candida dubliniensis* dalle altre specie del genere *Candida*.

**2 - COMPOSIZIONE**
**FORMULA TIPICA (PER LITRO, DOPO SCIoglIMENTO IN ACQUA)\***

Fattori di crescita	18,50 g
Cloramfenicolo	0,05 g
Gentamicina	0,10 g
Triptone	20,00 g
Glucosio	1,00 g
Agar	13,00 g
Substrato cromogenico	0,10 g

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

**3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO**

 Dagli inizi degli anni '90 sono stati compiuti progressi nei metodi di laboratorio per la diagnosi di *Candida* spp ed in particolare di *Candida albicans*, che hanno portato ad un'identificazione più rapida ed affidabile.<sup>1-3</sup> Uno di questi metodi è stato l'incorporazione di substrati cromogeni direttamente nel terreno d'isolamento. Un principio comune a questi terreni è l'inclusione di un substrato cromogeno per una β-esosaminidasi, consentendo così la differenziazione e l'identificazione presuntiva della specie più frequente e clinicamente importante, *C. albicans*.<sup>4</sup>

 Chromalbicans Agar è un terreno cromogeno e selettivo di "prima generazione" per l'isolamento di *Candida* spp. da campioni clinici e la differenziazione del gruppo *C. albicans* - *C. dubliniensis* dalle altre specie del genere *Candida*. La selettività del terreno è dovuta alla presenza di cloramfenicolo e gentamicina che sopprimono la crescita dei batteri. La differenziazione è ottenuta dalla presenza di un unico composto cromogeno per la rilevazione dell'attività enzimatica β-esosaminidasi di *C. albicans* e *C. dubliniensis*. L'idrolisi del composto provoca il rilascio di un cromoforo blu-verde insolubile che rimane all'interno delle colonie conferendo loro un colore tipico.

**4 - METODO DI PREPARAZIONE**

Sospendere 52,75 g in 1000 mL di acqua purificata fredda e portare ad ebollizione sotto agitazione per sciogliere la polvere. Autoclavare a 115°C per 15 minuti, raffreddare a 47-50°C e trasferire in piastre di Petri sterili.

**5 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO**

Aspetto della polvere	fine granulometria omogenea, beige
Aspetto del terreno in soluzione ed in piastra	biancastro, opalescente
pH finale a 25 °C	6,2 ± 0,2

**6 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE**

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Chromalbicans Agar	Terreno in polvere	4080002	500 g (9.5 L) CND: W0104030101; EDMA:14.03.01.01; RDM: 1858018 /R
Chromalbicans Agar	Terreno in polvere	4080004	5 kg g (95 L) CND: W0104030101; EDMA:14.03.01.01; RDM: 2029697/R

**7 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI**

Bagnomaria, termostato e strumentazione di laboratorio, beute, piastre di Petri, anse e tamponi sterili da microbiologia, terreni di coltura ausiliari e reagenti per la completa identificazione delle colonie.

**8 - CAMPIONI**

Chromalbicans Agar è destinato all'esame batteriologico di campioni clinici non sterili come tampone faringeo, vaginale, orale. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, il trasporto, la conservazione dei campioni clinici. Raccogliere i campioni prima della terapia antimicrobica, quando possibile. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni.

**9- PROCEDURA DELL'ANALISI**

- Portare le piastre a temperatura ambiente e lasciare asciugare la superficie del terreno.
- Inoculare rotolando il tampone di raccolta su una area ristretta in prossimità del bordo piastra, quindi strisciare su tutta la superficie del terreno con un'ansa per disperdere l'inoculo ed ottenere colonie isolate.
- Incubare a 35-37°C in aerobiosi, per 18-24 o 48 ore.





### 10 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica, registrare ciascuna specifica caratteristica morfologica e cromatica delle colonie isolate. *Candida albicans* e *Candida dubliniensis* coltivano con colonie blu o verde blu.

Altre specie del genere *Candida* crescono con colonie prive di colorazione.

I batteri Gram positivi e Gram negativi sono in gran parte inibiti.

### 11 - CONTROLLO QUALITÀ

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 responsabilità 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.

CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE (T°/ t / ATM)	RISULTATI ATTESI
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	35-37°C /18- 24h / A	buona crescita, colonie blu-verde
<i>C. tropicalis</i> NCPF 8841	35-37°C /18- 24h / A	buona crescita, colonie incolori
<i>P. mirabilis</i> ATCC 10005	35-37°C /18- 24h / A	crescita inibita
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	35-37°C /18- 24h / A	crescita parzialmente inibita

### 12 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Le caratteristiche delle prestazioni di Chromalbicans Agar sono state valutate da Carillo-Munoz et al.<sup>5</sup> con 723 ceppi d'isolamento clinico e ceppi di collezione appartenenti a diversi generi tra cui *Candida*, *Cryptococcus*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Trichosporon* e *Zygosaccharomyces*. L'identificazione presuntiva è stata confermata dal test di germinazione in provetta e dall'assimilazione dei carboidrati con API-ATB ID 32C. Chromalbicans Agar è stato molto utile per l'identificazione presuntiva dei ceppi di isolamento clinico di *C. albicans* / *C. dubliniensis* con valori di sensibilità e specificità significativamente alti (> 97%), ed un numero molto basso di falsi positivi e falsi negativi. Sensibilità del rilevamento di *C. albicans* / *C. dubliniensis*: 97,09%; specificità del rilevamento di *C. albicans* / *C. dubliniensis*: 97,63%. Valore predittivo del risultato negativo: 97,38%; valore predittivo del risultato positivo: 97,37%

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di terreno in polvere Chromalbicans Agar è testato per la produttività, la specificità e la selettività avendo come riferimento un lotto approvato in precedenza.

Produttività e specificità sono valutate mediante tecnica ecometrica semiquantitativa con i seguenti ceppi: *C. albicans* ATCC 10231, *C. albicans* ATCC 18804, *C. tropicalis* NCPF 8841. Dopo incubazione a 35-37°C per 18 -24 ore, si valutano e registrano l'entità delle crescite e le caratteristiche cromatiche delle colonie. I ceppi di *C. albicans* mostrano una buona crescita con colonie blu-verdi mentre *C. tropicalis* cresce con colonie incolori.

La selettività viene valutata con metodo Miles-Misra modificato inoculando le piastre con opportune diluizioni decimali in soluzione salina di una sospensione McFarland 0,5 dei ceppi non-target *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 19433, *P. mirabilis* ATCC 10005. *P. aeruginosa* e *P. mirabilis* risultano parzialmente inibiti e la crescita degli altri ceppi non-target è totalmente inibita.

### 13 - LIMITI DEL METODO

- *C. dubliniensis* è  $\beta$ -esosaminidasi positiva e cresce con colonie blu-verdi e quindi non è differenziabile da *C. albicans*.
- Il terreno contiene un unico substrato cromogeno per la rilevazione dei ceppi  $\beta$ -esosaminidasi positivi (*C. albicans* e *C. dubliniensis*) e quindi non consente la differenziazione tra altre specie del genere *Candida* che crescono con colonie incolori.
- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, 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.

### 14 - 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.
- I terreni in polvere devono essere manipolati con adeguate protezioni. Prima dell'uso consultare la scheda di sicurezza.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materiali di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione delle materie prime 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 di sicurezza specifiche per i materiali 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.
- Applicare le norme di buona fabbricazione nel processo di preparazione dei terreni di coltura in piastra o in flacone.
- Trattare i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminanti come terreno di coltura o agenti microbici.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire il terreno non utilizzato ed il terreno inoculato con i campioni o con ceppi microbici e sterilizzato, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- Non utilizzare il prodotto qui descritto come principio attivo per preparazioni farmaceutiche o come materiale per produzioni destinate al consumo umano ed animale.
- 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.

### 15 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ





Conservare a +2°C /+8°C al riparo della luce e dell'umidità. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Evitare di aprire il flacone in ambienti umidi. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare il prodotto nel caso il contenitore e/o il tappo fossero danneggiati, nel caso i contenitori non fossero ben chiusi o in caso di evidente deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento, presenza di grossi grumi). L'utilizzatore è responsabile del processo di preparazione del terreno e della validazione del periodo di validità del prodotto finito, in funzione della tipologia (piastre/flaconi) e del metodo di conservazione applicato (temperatura e confezionamento).

**16 - BIBLIOGRAFIA**

1. Polacheck I, Melamed M, Bercovier H, Salkin IF. Beta-Glucosidase in *Candida albicans* and its application in yeast identification. *J Clin Microbiol* 1987; 25:907-10.
2. Perry JL, Miller GR. Umbelliferyl-labeled galactosaminide as an aid in identification of *Candida albicans* *J Clin Microbiol* 1987;25:2424-5.
3. Willinger BW, Manafi M, Rotter ML. Comparison of rapid methods using fluorogenic-chromogenic assays for detecting *Candida albicans*. *Letters App Microbiol* 1994; 18:47-49
4. Perry JD, Freydie AM. The application of chromogenic media in clinical microbiology. *J App Microbiol* 2007; 103:2046
5. Carrillo-Muñoz AJ, Quindós G, Cárdenes CD, Alonso-Vargas R, Arévalo P, Brió S, Madariaga L. Evaluation of Chromalbicans Agar for presumptive identification of *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol* 2001; 18:105-8.

**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	 Utilizzare entro
 Limiti di temperatura		 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Consultare le Istruzioni per l'Uso	 Proteggere dalla luce	 Proteggere dall'umidità

**CRONOLOGIA DELLE REVISIONI**

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 4	Aggiornamento del contenuto e del layout	10/2020
Revisione 5	Modifiche a: "confezioni", "precauzioni ed avvertenze", "conservazione e validità"	01/2022

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

