

RPMI AGAR – CASITONE AGAR

Piastre pronte

IMPIEGO PREVISTO:

Terreni pronti in piastra per il test di sensibilità agli antimicotici con strisce di Etest®.

RPMI AGAR

FORMULA TIPICA (g/L)

RPMI1640 con MOPS 0.165M ed L-glutamina...	46.19
Glucosio.....	20.00
Agar.....	15.00
pH 7,0 ± 0,2	

CASITONE AGAR

FORMULA TIPICA (g/L)

Triptone.....	9.00
Glucosio.....	20.00
Agar.....	18.00
Sodio Citrato.....	10.00
Estratto di lievito.....	5.00
Potassio fosfato monobasico.....	0.54
Sodio fosfato bibasico.....	3.34
pH 7,0 ± 0,2	

DESCRIZIONE

Il terreno RPMI Agar è raccomandato per il test di sensibilità agli antimicotici con strisce Etest® (fluconazolo, ketoconazolo, voriconazolo, itraconazolo, anfotericina B, 5-fluorocitosina).

Il terreno Casitone Agar è indicato per il test di sensibilità agli azoli con strisce Etest® (fluconazolo, ketoconazolo, voriconazolo, itraconazolo).

Sulle piastre diametro 90 mm si consiglia di posizionare 1 striscia, sulle piastre diametro 150 mm, 5 strisce.

IMPIEGO

Inoculo per lieviti: Sospensione in soluzione fisiologica, con opacità pari a McFarland 0,5 per *Candida* spp. e Mc Farland 1 per *C. neoformans*.

Incubazione per lieviti: 35°C/ aerobiosi/2448 ore per *Candida* spp. e 48-72 ore per *C. neoformans*.

Inoculo per muffe: sospensione delle ife e dei conidi da colture mature di 5-7 gg, in soluzione fisiologica con Tween, con opacità pari a McFarland 0,5 per *Aspergillus* spp. e Mc Farland 1 per *Fusarium* e *Rhizopus* spp.

Incubazione per muffe: 35°C/umidità/ aerobiosi/2472 ore in funzione del genere

Linee guida:

Aspergillus spp.: 18-24 ore; *Fusarium* spp.: 35°C/2448 ore, seguita da temperatura ambiente per 24-48 ore; *Rhizopus* spp.: 18-24 ore; Per le altre specie prolungare l'incubazione quanto basta ed osservare giornalmente per verificare la formazione dell'ellisse.

LIEVITI

CONTROLLO QUALITA'		<i>C. krusei</i> ATCC 6258	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. albicans</i> ATCC 90028 ¹⁾	
(CMI µg/ml)					
Anfotericina B	AP	0.5-2	0.25-1	0.125-0.5	
5-Fluorocitosina	FC	NR ³⁾	0.064-0.25	0.5-2	
Fluconazolo	FL	NR ³⁾	1-4 (8) ²⁾	0.125-0.5	
Itraconazolo	IT	0.25-1	0.064-0.25	0.064-0.25	
Ketoconazolo	KE	0.25-1	0.032-0.125	0.008-0.032	
Voriconazolo	VO	0.25-1	0.016-0.064	0.004-0.016	
INTERPRETAZIONE		S	S-DD ⁷⁾	I ⁸⁾	R
NCCLS, CMI (µg/ml) ⁴⁾	Fluconazolo ⁵⁾	≤8	16-32	-	≥64
	5-Fluorocitosina	≤4	-	8-16	≥32
	Itraconazolo ⁶⁾	≤0.125	0.25-0.5	-	≥1
	Anfotericina B (*)	≤0.1 ⁹⁾	-	-	-
Note					
1. Usare questo ceppo per familiarizzare nella lettura delle ellissi con gli azoli e la presenza delle microcolonie.					
2. Occasionalmente possono crescere delle colonie fino a 8 µg/ml.					
3. Non raccomandato per il controllo qualità					
4. NCCLS M27-A2, 2002.					
5. Basato su infezioni delle mucose. <i>C. krusei</i> si considera intrinsecamente resistente. Il limite superiore per la sensibilità non è noto. Si può applicare S ≤ 4 µg/ml.					
6. Basato solo su infezioni delle mucose.					
7. S-DD: ceppi Sensibili Dose-Dipendenti - richiedono massimi livelli ematici. Per fluconazolo, può essere richiesto il dosaggio ≥400 mg/giorno. Per itraconazolo possono essere richiesti livelli plasmatici > 0.5 µg/ml per una risposta ottimale.					

8. Categoria di sensibilità incerta.
9. "Se la CMI di anfotericina B è >1 µg/ml,il ceppo è come se fosse resistente" (NCCLS M27-A2, p. 7, 2002).

Non vi sono dati NCCLS per l'interpretazione dei risultati con i funghi filamentosi né per l'interpretazione dei risultati forniti dai nuovi azoli (Posaconazolo, Ravuconazolo e Voriconazolo). Consultare a proposito il documento NCCLS M27-A2 a pagina 8, tranne che per l'Anfotericina B.

(*) = Per l' Anfotericina B l' NCCLS non ha approvato i breakpoints, pertanto per l' interpretazione della sensibilità in vitro di ceppi di *Candida*, si riporta sopra l'ipotesi di J.H. Rex *et al.* "Practice guidelines for the treatment of candidiasis" Infectious Diseases Society of America. Clin. Infect. Dis. 2000 Apr; 30(4):662-78.

FUNGHI FILAMENTOSI

CONTROLLO QUALITA' ED INTERPRETAZIONE

Non vi sono dati NCCLS disponibili al momento, consultare la letteratura. (CMI µg/ml, sperimentali).

C. parapsilosis
ATCC 22019

Anfotericina B	AP	0.25-2
Itraconazolo	IT	0.064-0.25
Ketoconazolo	KE	0.032-0.125

LETTURA

- 1 - E' consigliabile familiarizzare con la lettura delle piastre variando i periodi di incubazione da 1 a 3 giorni ed osservando quando vi siano crescite ottimali e l'apparizione dell'ellisse.
- 2 - Eseguire una prima lettura dopo 24 ore, una seconda dopo 48 ore; i ceppi a crescita lenta possono richiedere fino a 72 ore.
- 3 - Leggere la CMI al punto di intersezione dell'ellisse con la scala delle CMI.
- 4 - Ignorare i filamenti che possono ricoprire l'ellisse soprattutto quando si prolunga l'incubazione.

CONSERVAZIONE E VALIDITA'

Conservare a 2-8°C al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento. Validità dalla data di produzione: 3 mesi.

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente né contiene sostanze pericolose in concentrazioni • 1%. Il terreno in piastra qui descritto è solo per uso diagnostico *in vitro* e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le piastre dopo l'uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

Bibliografia

- Szekely A. et al. Comparison of Etest and broth microdilution for antifungal drug susceptibility testing of moulds. JCM, vol. 37, no. 5, p. 1480-1483, 1999.
- Johnson E.M. et al. Lack of correlation of in vitro amphotericin B susceptibility testing with outcome in a murine model of aspergillus infection. JAC; vol. 45, no. 1, p. 85-93, 2000.
- Pfaller M.A. et al. In vitro susceptibility testing of filamentous fungi: comparison of Etest and reference microdilution methods for determining itraconazole MICs. JCM, vol. 38, no. 9, p. 3359-3361, 2000.
- NCCLS M38-P: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Conidium-Forming Filamentous Fungi; Proposed Standard (1998).
- Wanger et al. Comparison of Etest and NCCLS broth macrodilution method for antifungal susceptibility testing: Enhanced ability to detect amphotericin B-resistant *Candida* isolates. AAC, vol. 39, no. 11, p. 2520-2522, 1995.
- Pfaller et al. Evaluation of Etest method for determining fluconazole susceptibilities of 402 clinical yeast isolates by using three different agar media. JCM, vol. 36, no. 9, p. 2586-2589, 1998.

CONFEZIONI

54RPMI90

RPMI AGAR

549855

CASITONE AGAR

20 piastre da 90 mm, confezionate in film termoretrato, in scatola di cartone.

54RPMI15

RPMI AGAR

509855P

CASITONE AGAR

5 piastre diam. 150 mm confezionate in film termoretrato.

