

# CHROMagar Malassezia

## INSTRUKCJA UŻYCIA GOTOWEGO PODŁOŻA NA PŁYTCE

### 1. Przeznaczenie

CHROMagar Malassezia jest podłożem chromogennym używanym do jakościowego wykrywania i selektywnej izolacji *Malassezia* spp. w próbkach materiałów klinicznych pochodzących od człowieka oraz innych próbkach.

**Funkcją podłoża** CHROMagar Malassezia jest wspomaganie diagnozy u pacjentów z objawami powierzchniowych zakażeń grzybiczych.

Grzyby z rzędu *Malasseziales* wchodzi w skład normalnej mykobioty skóry człowieka. Jednak w niektórych sytuacjach mogą wywoływać dermatozy, przez co zalicza się je do oportunistycznych mykopatogenów człowieka. Grzyby z rodzaju *Malassezia*, a szczególnie *Malassezia furfur* są odpowiedzialne za grzybice powierzchniowe. Grzyby te mogą powodować łojotokowe i atopowe zapalenie skóry, łupież i łupież pstry, zapalenie mieszków włosowych, a także zapalenie płuc u pacjentów z przeszczepami układu krwiotwórczego. Łupież pstry jest częstą powierzchnową infekcją występującą u ludzi na całym świecie. W środowiskach tropikalnych może dotyczyć nawet 60% populacji.

Nr kat.:	Rodzaj podłoża:	Opakowanie:
1407PD90	podłoże stałe na płytce, gotowe do użycia	1x10 szt (90 mm)

### 2. Zasada działania

Pepton z ekstraktem drożdżowym stanowią źródło azotu i witamin w podłożu CHROMagar Malassezia. Mieszanina chromogenna pozwala na wykrywanie i różnicowanie izolowanych *Malassezia* spp. Chloramfenikol hamuje wzrost większości bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich. Glicerol stanowi źródło węgla. Tween 80 neutralizuje działanie środków dezynfekcyjnych.

### 3. Skład podłoża

w g/l wody destylowanej:	Suplementy/ litr pożywki:		
Agar	15,0 g	Glicerol	1,0 ml
Pepton i ekstrakt drożdżowy	38,0 g	Tween 80	0,5 ml
Chloramfenikol	0,5 g		
Mieszanina chromogenna	2,8 g		

pH 6,3 ± 0,3 w temperaturze 25°C.

**Wygląd podłoża** - Podłoże jednorodne, jasnobezowe.

### 4. Przygotowanie pożywki

Pożywka jest gotowa do użycia. Bezpośrednio przed użyciem pożywkę należy doprowadzić do temperatury pokojowej.

### 5. Wyposażenie wymagane, nie dostarczone

Sprzęt ogólnolaboratoryjny niezbędny do wykonania badań, w tym cieplarka laboratoryjna.

### 6. Środki ostrożności

- Produkt przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego.
- Produkt nieautomatyzowany.
- Podłoże zawiera składniki pochodzenia zwierzęcego, co może wiązać się z obecnością biologicznych czynników chorobotwórczych, dlatego z podłożem należy postępować zgodnie z zasadami pracy z materiałem biologicznym potencjalnie zakaźnym.
- Nie należy używać płytek, jeżeli na podłożu są widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne oznaki pogorszenia jakości.
- Nie używać płytek uszkodzonych.
- Nie używać płytek po terminie ważności.
- Nie dopuszcza się ponownej inkubacji wcześniej posianych płytek.

- W celu zapewnienia poprawnych wyników badań, należy postępować zgodnie z niniejszą instrukcją.
- W przypadku, gdy postępowanie z pożywką podczas wykonywania badania będzie odbiegało od opisanego w niniejszej instrukcji, laboratorium jest zobowiązane do przeprowadzenia walidacji przyjętego postępowania.

## 7. Przechowywanie

Płytki z podłożem należy przechowywać w temperaturze 2–12°C do upływu terminu ważności. Podłoża przechowywać w oryginalnym opakowaniu, w pozycji odwróconej z dala od bezpośredniego źródła światła. Aby uniknąć zamrożenia agaru, nie należy przechowywać płytek blisko ścian lodówki. Aby uniknąć pojawienia się większej ilości wody skroplonej na wieczku płytki nie należy otwierać zbyt często lodówki i nie przechowywać podłoża w przepelnionej lodówce.

## 8. Termin ważności

Podłoże przechowywane w temperaturze 2–12°C zachowuje swoje właściwości do 3 miesięcy od daty produkcji.

## 9. Materiał do badań

Próbki materiałów klinicznych pochodzące od człowieka, w tym próbki pobrane ze skóry, uszu oraz inne próbki. Próbki do badań pobrać zgodnie z aktualnymi wytycznymi. Próbki do badań do czasu dostarczenia do laboratorium przechowywać zgodnie z obowiązującymi wytycznymi przechowywania i transportu materiału biologicznego obowiązującymi w laboratorium. Wykonać posiew próbki możliwie jak najszybciej po dostarczeniu materiału do laboratorium.

## 10. Sposób wykonania

1. Przed użyciem podłoże należy doprowadzić do temperatury pokojowej.
2. Posiać próbkę rozprowadzając ją na powierzchni agaru przy pomocy ezy.
3. Jeżeli próbka została pobrana na wymazówkę - końcówkę wymazówki delikatnie obracać na niewielkim obszarze agaru tuż przy brzegach płytki, a następnie wykonać posiew redukcyjny przy użyciu jałowej ezy.
4. Posiane płytki inkubować w warunkach tlenowych, w temperaturze 30-37°C
5. Wynik wzrostu odczytać po 72 godzinach inkubacji.

## 11. Odczyt i interpretacja wyników wzrostu

Po okresie inkubacji obserwować:

- obecność wzrostu,
- morfologię kolonii,
- wybarwienie kolonii

Typowa morfologia kolonii wyhodowanych na podłożu CHROMagar Malassezia:

Mikroorganizm	Typowa morfologia kolonii
<i>Malassezia furfur</i>	Kolonie duże, bladoróżowe, pomarszczone
Inne <i>Malassezia</i> spp. (włączając <i>Malassezia globosa</i> i <i>Malassezia restricta</i> )	Kolonie różowe do fioletowych
<i>Candida albicans</i>	Kolonie zielone
<i>Candida tropicalis</i>	Kolonie niebieskie metaliczne, z różowofioletkowym halo
<i>Candida krusei</i>	Kolonie różowe, rozmyte
Inne gatunki drożdży	Kolonie białe do różowofioletkowych

W celu ostatecznej identyfikacji wyhodowanych drobnoustrojów, należy przeprowadzić dodatkowe badania i/lub testy potwierdzające przy użyciu innych metod wykorzystywanych w laboratorium.



Morfologii kolonii i sposób wzrostu *Malassezia furfur* na podłożu CHROMagar Malassezia

## 12. Kontrola jakości

Właściwości odżywcze i selektywność podłoża należy kontrolować z użyciem szczepów odniesienia dających oczekiwane reakcje dodatnie i ujemne. Badanie należy wykonywać używając czystych, świeżych hodowli szczepów odniesienia dających pożądane reakcje. Do przeprowadzenia kontroli jakości podłoża, należy użyć następujących szczepów odniesienia:

Szczep odniesienia:	Intensywność wzrostu:	Morfologia kolonii:
<i>Malassezia furfur</i> ATCC14521	dobry wzrost	duże, różowofioletkowe, pomarszczone
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	dobry wzrost	bladzielone
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 1369	dobry wzrost	niebieskie metaliczne z różowofioletkowym halo
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	dobry wzrost	różowe, rozmyte
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	brak wzrostu	-

Dopuszcza się stosowanie innych szczepów odniesienia zapewniających spójność pomiarową, zgodnie z procedurami i instrukcjami kontroli jakości obowiązującymi w laboratorium. Procedury kontroli jakości powinny spełniać wymagania obowiązujących przepisów oraz wytycznych/rekomendacji.

## 13. Ograniczenia metody

- Z powodu zmienności wymagań odżywczych, niektóre szczepy grzybów *Malassezia* spp. mogą rosnąć słabo, albo nie rosnąć wcale na podłożu CHROMagar Malassezia.
- W celu ostatecznej identyfikacji należy wykonać dodatkowe badania identyfikacyjne

## 14. Charakterystyka metody

*Malassezia* to grzyby oportunistyczne, które mogą wywoływać uciążliwe infekcje skóry. Z powodu bardzo dużego podobieństwa cech morfologicznych i biochemicznych różnych gatunków należących do rodzaju *Malassezia*, stosowanie tradycyjnych pożywek hodowlanych do ich zróżnicowania na podstawie cech fenotypowych jest niewystarczające. Podłoże CHROMagar Malassezia zostało opracowane w celu ułatwienia wykrywania, ale także lepszego rozróżniania najpospolitszych gatunków z rodzaju *Malassezia*.

Takamasa K. oraz współpracownicy przeprowadzili badania dotyczące skuteczności pożywki CHROMagar Malassezia, tj. czułości i specyficzności. W badaniach tych wykorzystano 377 szczepów *Malassezia*, które inkubowano przez 4-7 dni w temperaturze 32°C. W 366 próbkach klinicznych pochodzących od ludzi i psów wyizolowano 46 szczepów *Malassezia* spp. o nietypowych cechach biochemicznych. Wśród tych szczepów znalazły się 2 izolaty lipozależne (4,7%), 2 izolaty *M. pachydermatis*, (4,7%), 1 izolat wytwarzający osad (2,4%), 6 izolatów *M.furfur* (14,6%), 37 izolatów *M. slooffiae* (34,3%), 17 izolatów nietolerujących wzrostu w temp. 40°C i 2 izolaty asymilujące polietoksylowany olej rycynowy. Pomimo, iż morfologia i wielkość kolonii była podobna, to na podłożu CHROMagar Malassezia łatwo można było je odróżnić. Badania wykazały, że 3 najważniejsze klinicznie gatunki, tj. *M.furfur*, *M.globosa*, *M.restricta* zostały prawidłowo zidentyfikowane co

potwierdziło, że podłoże to jest skutecznym i bardzo przydatnym narzędziem do rutynowej identyfikacji klinicznie ważnych gatunków *Malassezia* w laboratoriach klinicznych. Czulość tego podłoża oceniono na > 97%, natomiast swoistość na > 71%.

	CHROMagar Malassezia
Czulość	>97% *
Specyficzność	>71% *

\* - dane uzyskane w badaniu „Revised Culture-based system for Identification of Malassezia Species” Koichi Makimura et Al. 2007

## 15. Postępowanie ze zużytymi podłożami

Podłoża po badaniach oraz nieużyte podłoża należy utylizować zgodnie z aktualnie obowiązującymi przepisami dotyczącymi postępowania z odpadami medycznymi oraz procedurami laboratorium odnośnie utylizacji materiałów zakaźnych i potencjalnie zakaźnych.

## 16. Zgłaszanie zdarzeń niepożądanych

Zgodnie z obowiązującymi przepisami, zdarzenia niepożądane i incydenty, które można bezpośrednio powiązać z opisywanym podłożem, należy zgłaszać producentowi oraz Prezesowi Urzędu Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych na adres:

Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych  
Al. Jerozolimskie 181C, 02-222 Warszawa;  
Telefon: 48 22 492-11-00  
Fax: 48 22 492-11-09

## 17. Piśmiennictwo

1. Takamasa Kaneko, Medical Mycology December 2005, 43, 699-704, Vital growth factors of Malassezia species on modified CHROMagar Candida
2. Takamasa Kaneko, Medical Mycology May 2006, 44,227-231, Tween 40-based precipitate production observed on modified chromogenic agar and development of biological identification kit for Malassezia species
3. Takamasa Kaneko, Koichi Makimura, Michiko Abe, Ryoko Shiota, Yuka Nakamura, Rui Kano, Atsuhiko Hasegawa, Takashi Sugita, Shuichi Shibuya, Shinichi Watanabe, Hideyo Yamaguchi, Shigeru Abe and Noboru Okamura 2007, Journal of Clinical Microbiology, Revised Culture-based system for Identification of Malassezia Species
4. Takamasa Kaneko, Ryoko Shiota, Shuichirou Shibuya, Shinichi Watanabe, Yoshiko Umeda, Kimiko Takeshita, Mami Yamamoto, Keiko Nishioka, Koichi Makimura Medical Mycology 48, 824-827 September 2010, Human external ear canal as the specific reservoir of Malassezia slooffiae
5. Silvana Ramadán\*, Maximiliano Sortino, Lucía Bulacio, María Laura Marozzi, Clara López, Laura Ramos CEREMIC (Mycology Reference Centre), Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (School of Pharmacy and Biochemistry), Universidad Nacional de Rosario, Prevalence of Malassezia species in patients with pityriasis versicolor in Rosario, Argentina
6. Takao Yoshikawa Int J Oral Med Sci 7(2):72-76,2008, Characterization of Malassezia spp. In oral cavity of dog Department of Microbiology and Immunology, Nihon University School of Dentistry at Matsudo, Chiba 271-8587 Japan
7. Rodrigo Cruz y Peggy Vieille - Cátedra de Micología, Universidad de Valparaíso - Rev Chilena Infectol 2015; 32 (1): 71-72, Malassezia pachydermatis (Weidman) C.W. Dodge
8. N. Farina-Gonzalez, R. Acosta, M. Samudio, A. Aldama, L. Bolla, L. Figueredo y G. Giusiano Rev Chilena Infectol 2019;36:742-749 November 2019, Especies de Malassezia causantes de pitiriasis versicolor en Paraguay
9. <https://www.chromagar.com/>


### Historia zmian dokumentu

Data zmiany	Sekcja	Opis zmiany
2022/05/06	Cały dokument	Dostosowanie do wymagań Rozporządzenia UE 2017/746

### UWAGA

Historia zmian dokumentu nie uwzględnia zmian redakcyjnych.

SYMBOL	NAZWA SYMBOLU	OPIS	NR REF.
	Wytwórca	Oznacza wytwórcę wyrobu medycznego zgodnie z definicją zawartą w dyrektywach unijnych 90/385/EWG, 93/42/EWG oraz 98/79/WE.	5.1.1
	Data produkcji	Oznacza datę produkcji wyrobu medycznego.	5.1.3
	Numer katalogowy	Oznacza numer produktu w katalogu producenta pozwalający zidentyfikować wyrób medyczny.	5.1.6
	Numer serii / kod partii	Oznacza nadany przez producenta numer partii pozwalający zidentyfikować partię produktów, do której należy wyrób medyczny.	5.1.5
	Wyrób do diagnostyki in vitro	Oznacza wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki in vitro	5.5.1
	Nie używać powtórnie	Oznacza wyrób medyczny przeznaczony do jednokrotnego użytku lub do użytku podczas leczenia jednego pacjenta w ramach jednej procedury medycznej.	5.4.2
	Wystarczy na wykonanie <n> testów	Oznacza nadaną przez producenta wartość na ile testów wystarczy wyrób.	5.5.5
	Data przydatności do użycia	Oznacza datę, po której wyrób medyczny nie powinien być używany.	5.1.4
	Przestrzegać zakresu temperatury	Wskazuje maksymalną i minimalną wartość temperatury, w której należy przechowywać, transportować lub użytkować przedmiot.	5.3.7
	Symbol bezpieczeństwa (Zgodność z wymogami UE)	Oznaczenie CE na produkcie stanowi deklarację producenta potwierdzającą zgodność produktu z zasadniczymi wymogami odpowiednich przepisów Unii Europejskiej dotyczących zdrowia, bezpieczeństwa i ochrony środowiska.	nd.
	Sprawdź w instrukcji użycia	Oznacza konieczność zapoznania się z instrukcją użytkowania	5.4.3
	Sterylizowany aseptycznymi technikami przetwarzania	Wskazuje wyrób medyczny, który został wytworzony za pomocą zaakceptowanych technik aseptycznych.	5.2.2
	Nie używać w przypadku uszkodzonego opakowania	Oznacza wyrób medyczny, który nie powinien być używany, jeśli opakowanie zostało uszkodzone lub otwarte.	5.2.8

	Zawiera materiał biologiczny pochodzenia zwierzęcego	Oznacza wyrób medyczny zawierający materiał biologiczny tj. tkanki, komórki lub ich pochodne pochodzenia zwierzęcego.	5.4.8
---	--	---	-------

 **GRASO**<sup>®</sup>



Graso Zenon Sobiecki  
Krağ 4A; 83-200 Starogard Gdański  
[www.grasobiotech.pl](http://www.grasobiotech.pl)

Oddział produkcyjny  
Leśna 1, Owidz  
83-211 Jabłowo

