

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI

I WPROWADZENIE

To podłoże jest stosowane do hodowli jakościowej dermatofitów i innych grzybów patogennych oraz niepatogennych z próbek klinicznych oraz nieklinicznych.

II PROCEDURA TESTU WYDAJNOŚCI

- Wykonać posiew reprezentacyjnej próby podłoży hodowlami wymienionych poniżej szczepów.
 - Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 oraz *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 z hodowli na agarze dekstrozowym BBL Sabourauda zaszczipać bezpośrednio za pomocą ezy 0,01 mL.
 - Candida albicans* ATCC 10231 oraz *Escherichia coli* ATCC 25922 zaszczipać za pomocą 0,01 mL zawiesiny w roztworze soli fizjologicznej rozcieńczonej dla uzyskania stężeń $10^3 - 10^4$ CFU.
- Inkubować próbki z poluzowanymi nakrętkami przez okres do 7 dni w temperaturze 25 – 30°C w warunkach tlenowych.
- Oczekiwane wyniki

Drobnoustroje	ATCC	Odzysk
* <i>Candida albicans</i>	10231	Wzrost dość dobry lub intensywny
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Wzrost dość dobry lub intensywny
* <i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Zahamowanie (częściowe do całkowitego)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Zahamowanie (częściowe do całkowitego)

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

- Oceń próbki według opisu w części „Pogorszenie jakości produktu”.
- Wzrokowo ocenić reprezentatywne próbki, aby upewnić się, że w ich użytkowaniu nie będą przeszkadzały żadne wady fizyczne.
- Określić potencjometrycznie wartość pH w temperaturze pokojowej, aby upewnić się, że odczyn jest zgodny ze specyfikacją i wynosi $5,6 \pm 0,2$.
- Inkubować reprezentatywne próbki bez wysianych drobnoustrojów w temperaturze 20 – 25°C oraz 30 – 35°C i po 7 dniach ocenić pod kątem zanieczyszczenia drobnoustrojami.

INFORMACJA O PRODUKCIE

IV PRZEZNACZENIE

To podłoże jest stosowane w procedurach hodowli jakościowej dermatofitów i innych grzybów patogennych oraz niepatogennych z próbek klinicznych oraz nieklinicznych.

V STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Agar dekstrozowy Sabourauda to opracowane przez Sabourauda podłoże uniwersalne służące do hodowli dermatofitów¹. Niskie pH (5,6) sprzyja wzrostowi grzybów, w szczególności dermatofitów, hamując jednocześnie wzrost bakterii zanieczyszczających próbki kliniczne².

Kwaśne pH podłoża może jednak hamować wzrost niektórych gatunków grzybów². Dodatek środków przeciwdrobnoustrojowych ułatwia wzrost grzybów patogennych w próbkach silnie zanieczyszczonych bakteriami oraz grzybami saprofitycznymi³.

VI ZASADY PROCEDURY

Agar dekstrozowy Sabourauda jest podłożem peptonowym uzupełnionym dekstrą podtrzymującą wzrost grzybów. Dodatek antybiotyków i środków przeciwgrzybiczych hamuje wzrost bakterii oraz grzybów saprofitycznych, które utrudniają wzrost dermatofitów i grzybów powodujących grzybicę ogólnoustrojową³. Chloramfenikol jest antybiotykiem o szerokim spektrum działania wobec bakterii gram ujemnych oraz gram dodatnich. Cykloheksymid to środek przeciwgrzybiczy czynny przede wszystkim wobec grzybów saprofitycznych, który nie hamuje wzrostu drożdży oraz dermatofitów.

VII ODCZYNNIKI

Sabouraud Dextrose CC Agar

Przybliżony skład* w przeliczeniu na litr wody oczyszczonej

Trzustkowy wyciąg kazeiny.....	5,0 g	Agar	15,0 g
Pepsynowy wyciąg tkanki zwierzęcej.....	5,0 g	Chloramfenikol	0,05 g
Dekstroza	40,0 g	Cykloheksymid	0,5 g

*Skorygowany i/lub uzupełniony zgodnie z wymaganiami, których celem jest spełnienie kryteriów wydajności.

Ostrzeżenia i środki ostrożności: Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Probówki z ciasno dokręconymi nakrętkami należy otwierać ostrożnie, aby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła.

W próbkach klinicznych mogą być obecne drobnoustroje patogenne, takie jak wirusy zapalenia wątroby i HIV. Podczas pracy z wszelkimi materiałami zanieczyszczonymi krwią i innymi płynami ustrojowymi należy stosować „Standardowe środki ostrożności”⁴⁻⁷ oraz przestrzegać wytycznych obowiązujących w danym laboratorium. Gotowe podłoża w probówkach, pojemniki na próbki oraz inne skażone wyposażenie i materiały należy przed wyrzuceniem poddać sterylizacji w autoklawie.

Przechowywanie: Otrzymane probówki umieścić i przechowywać w ciemnym miejscu, w temperaturze 2 – 8°C. Unikać zamrażania i przegrzewania. Otwierać bezpośrednio przed użyciem. Ograniczać do minimum ekspozycję na światło. Podłoża w probówkach, które przed użyciem są przechowywane zgodnie z zaleceniami na etykiecie, mogą być poddane inokulacji do wygaśnięcia daty ważności oraz inkubowane przez okres do 6 tygodni. Przed posiewem ogrzać podłoże do temperatury pokojowej.

Pogorszenie jakości produktu: Nie używać podłoża w przypadku widocznych oznak skażenia mikrobiologicznego, zmian zabarwienia, wysychania lub innych objawów świadczących o pogorszeniu jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI

Szczegółowe informacje dotyczące pobierania próbek i postępowania z nimi znajdują się w literaturze fachowej⁸⁻¹¹.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały: Sabouraud Dextrose CC Agar (agar dekstrozowy Sabourauda CC)

Materiały wymagane, ale niedostarczane: Pomocnicze podłoża hodowlane, odczynniki, drobnoustroje do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodne z wymaganiami.

Procedura testowa: Stosować techniki aseptyczne.

Zaszczepić pożywkę bezpośrednio po dostarczeniu próbki do laboratorium. Posiew próbki na podłożu należy wykonać przy użyciu sterylnej ezy do posiewów. Informacje na temat obróbki oraz inokulowania próbek tkanek, wyskrobów ze skóry, włosów, paznokci itp. znajduje się w odpowiedniej literaturze^{3,8-11}.

W celu izolacji grzybów wywołujących grzybicę skóry próbkę należy nanieść jednocześnie na podłoże selektywne i nieselektywne. Probówki inkubować w temperaturze 25 do 30°C.

Kontrola jakości przez użytkownika: Patrz „Procedury kontroli jakości”.

Należy spełniać wymagania kontroli jakości zgodnie z odpowiednimi przepisami prawa lokalnego, stanowego i/lub federalnego, z wymaganiami akredytacji i standardowymi procedurami kontroli jakości danego laboratorium. Zaleca się skorzystanie z odpowiednich wytycznych CLSI lub przepisów CLIA w celu ustalenia właściwych zasad kontroli jakości.

X WYNIKI

Probówki należy przynajmniej raz w tygodniu oceniać pod kątem wzrostu grzybów. Hodowle przed określeniem ich jako ujemne należy prowadzić przez co najmniej 4 do 6 tygodni.

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

Do wykrycia wszystkich potencjalnie istotnych drobnoustrojów w próbce rzadko wystarcza jedno podłoże. Składniki podłoża selektywnego mogą hamować wzrost niektórych pożądanych gatunków lub umożliwiać wzrost gatunków, które powinny hamować, zwłaszcza jeśli ich liczba w próbce jest duża. Zatem oprócz hodowli posiewów z danej próbki na podłożach selektywnych należy również wykonać posiew na podłożach nieselektywnych, co pozwala uzyskać dodatkowe informacje i zapewnić wzrost wszystkich potencjalnych patogenów.

W celu identyfikacji drobnoustrojów należy je hodować jako czystą kulturę. W celu ostatecznej identyfikacji należy przeprowadzić badania morfologiczne, biochemiczne lub serologiczne. Szczegółowe informacje i opisy zalecanych procedur można znaleźć w stosownej literaturze.^{3,8,9,11-13}

XII CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA

Przed dopuszczeniem do obrotu wszystkie partie agaru dekstrozowego Sabourauda CC są sprawdzane pod kątem ich skuteczności. Reprezentatywne próbki partii są bezpośrednio zaszczepiane *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 oraz *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 hodowanymi na agarze dekstrozowym **BBL** Sabouraud Dextrose Agar. Ponadto próbki są badane normalnymi zawiesinami *Escherichia coli* ATCC 25922 i *Candida albicans* ATCC 10231 rozcieńczonymi w soli fizjologicznej do 10³ do 10⁴ CFU. Zaszczepione probówki inkubuje się z poluzowanymi nakrętkami przez okres do 7 dni w temperaturze 25 – 30°C w warunkach tlenowych. W przypadku *T. mentagrophytes* i *C. albicans* obserwuje się dobry lub bardzo dobry wzrost. Wzrost *A. brasiliensis* i *E. coli* jest częściowo lub całkowicie zahamowany.

XIII DOSTĘPNOŚĆ

Nr kat.	Opis
---------	------

297649	BD BBL Sabouraud Dextrose CC Agar (Agar dekstrozowy Sabourauda CC), pakowany po 10 skosów, probówki w rozmiarze A
--------	--

XIV PIŚMIENNICTWO

1. Sabouraud, R. 1910. Les teignes, p. 553. Masson et Cie, Paris.
2. 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.
3. Weitzman, I., J. Kane, and R.C. Summerbell. 1995. *Trichophyton*, *Microsporum*, *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.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
5. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol 17:53-80.
6. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
7. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from the risks related to exposure to the biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
8. Haley, L.D., H. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. Cumitech 11, Practical methods for culture and identification of fungi in the clinical mycology laboratory. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
10. Merz, W.G., and G.D. Roberts. 1995. Detection and recovery of fungi from clinical specimens, p. 709-722. 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.
11. Kwon-Chung, K.J., and J.E. Bennett. 1992. Medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia.
12. Larone, D.H. 1995. Medically important fungi: a guide to identification, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1992. Mycology, p. 791-877. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 4th ed., J.B. Lippincott Co., Philadelphia.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD.