



BBL Sabouraud Dextrose Agar
BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol
L007492 • wersja 12 • październik 2015



PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI (Opcjonalnie)

I WPROWADZENIE

Produkt Sabouraud Dextrose Agar (Agar Sabouraud z dekstrozą) jest nieselektywnym podłożem do hodowli i podtrzymywania wzrostu patogennych i niepatogennych gatunków grzybów, zwłaszcza dermatofitów. Selektowność podłoża uzyskuje się poprzez dodanie chloramfenikolu.

II PROCEDURA TESTU

1. Upłynnić podłoże Sabouraud Dextrose Agar Deeps w probówkach w rozmiarze A poprzez ich ogrzanie we wrzącej łaźni wodnej.* Ochłodzić do temperatury 45 – 50°C, rozlać do płytek Petriego i odczekać co najmniej 30 min na zestalenie się podłoża.
***UWAGA:** Nie zaleca się korzystania z kuchenki mikrofalowej.
2. Zaszczepić reprezentatywne próbki podłoża hodowlami wymienionych poniżej szczepów.
 - a. Za pomocą ezy skalibrowanej do objętości 0,01 mL posiać pasmowo na powierzchni podłoża agarowego hodowle grzybów rosnące na podłożu bulionowym (hodowane do 7 dni). W przypadku *Escherichia coli* posiać zawartą w jednej ezie objętość rozcieńczenia 10^{-1} hodowli rosnącej 18 – 24 h na podłożu **Trypticase** Soy Broth.
 - b. Inkubować badane pojemniki w temperaturze 25 – 30°C w warunkach tlenowych. Należy poluzować nakrętki w probówkach i butelkach zawierających podłoże.
 - c. Podczas testowania podłoża Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol (Agar Sabouraud z dekstrozą i chloramfenikolem) dołączyć podłoża skośne Sabouraud Dextrose Agar jako nieselektywne kontrole.**UWAGA:** W przypadku stosowania *A. brasiliensis* (ATCC 16404) pracować w komorze spełniającej wymogi bezpieczeństwa biologicznego.
3. Po inkubacji trwającej do 7 dni skontrolować pojemniki, oceniając stopień wzrostu i zabarwienie kolonii oraz selektowność podłoża zawierającego chloramfenikol.
4. Oczekiwane wyniki

Dotyczące podłoża Sabouraud Dextrose Agar

Mikroorganizmy CLSI	ATCC	Wzrost
* <i>Candida albicans</i>	60193	Wzrost po 72 h
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Wzrost po 72 h

Dotyczące podłoża Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

Mikroorganizmy	ATCC	Wzrost
* <i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Wzrost
* <i>Candida albicans</i>	10231	Wzrost
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Wzrost
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Zahamowanie (częściowe lub całkowite)

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

1. Zbadać próbki lub butelki zgodnie z opisem w części „Pogorszenie jakości produktu”.
2. Wzrokowo skontrolować reprezentatywne próbki lub butelki, aby upewnić się, że ewentualne wady fizyczne nie będą miały wpływu na ich użycie.
3. Określić potencjometrycznie wartość pH w temperaturze pokojowej, aby upewnić się, że odczyn jest zgodny ze specyfikacją i wynosi $5,6 \pm 0,2$.
4. Inkubować reprezentatywne próbki lub butelki bez wysianych drobnoustrojów w temperaturze 20 – 25°C i 30 – 35°C i ocenić po 7 dniach pod względem zanieczyszczenia drobnoustrojami.

INFORMACJA O PRODUKCIE

IV PRZEZNACZENIE

Podłoże Sabouraud Dextrose Agar stosuje się w badaniach jakościowych do hodowli dermatofitów. Dodatek chloramfenikolu sprawia, że podłoże staje się bardziej wybiórcze dla grzybów.

V STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Podłoże Sabouraud Dextrose Agar jest uniwersalną pożywką opracowaną przez Sabouraud do hodowli dermatofitów.¹ Niskie pH, wynoszące około 5,6, jest korzystne dla wzrostu grzybów (zwłaszcza dermatofitów), natomiast lekko hamuje wzrost bakterii zanieczyszczających próbki pochodzenia klinicznego.²⁻⁴ Dodatek chloramfenikolu jest modyfikacją mającą na celu zwiększenie hamującego wpływu na wzrost bakterii i umożliwienie izolacji z zanieczyszczonych próbek grzybów oportunistycznych, które wywołują kliniczne infekcje przypominające dermatofitozy, lecz wykazują wrażliwość na cykloheksymid zawarty w niektórych selektywnych podłożach do hodowli grzybów.^{3,4}

VI ZASADY PROCEDURY

Podłoże Sabouraud Dextrose Agar jest pożywką opartą na peptonie, uzupełnioną dekstrozą podtrzymującą wzrost grzybów. Peptony są źródłem azotowych czynników wzrostu. Dekstroza stanowi źródło energii niezbędnej do wzrostu drobnoustrojów. Chloramfenikol jest antybiotykiem o szerokim spektrum działania, powodującym — po dołączeniu do składu podłoża — zahamowanie wzrostu wielu różnorodnych bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich.⁵

VII ODCZYNNIKI

Sabouraud Dextrose Agar

Przybliżony skład* w przeliczeniu na 1 litr wody oczyszczonej

Trzustkowy hydrolizat kazeiny 5,0 g

Hydrolizat pepsynowy tkanki zwierzęcej 5,0 g

Dekstroza 40,0 g

Agar 15,0 g

*Skorygowany lub uzupełniony zgodnie z wymaganiami kryteriów działania.

Podłoże Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol poza wymienionymi wyżej składnikami zawiera 0,05 g chloramfenikolu.

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 mikroorganizmy chorobotwórcze, w tym wirusy zapalenia wątroby i wirus HIV.

Podczas pracy ze wszelkimi materiałami skażonymi krwią i innymi płynami ustrojowymi należy przestrzegać „Standardowych środków ostrożności”⁶⁻⁹ oraz wytycznych obowiązujących w danej placówce. Po wykorzystaniu gotowe probówki, pojemniki na próbki oraz inne materiały skażone należy przed wyrzuceniem poddać sterylizacji w autoklawie.

Instrukcje dotyczące przechowywania: Otrzymane probówki umieścić i przechowywać w zaciemnionym miejscu, w temperaturze 2 – 8°C. Unikać zamrażania i przegrzewania. Otwierać dopiero bezpośrednio przed użyciem. Ograniczać do minimum ekspozycję na światło. W pożywkach przechowywanych do momentu użycia w probówkach, zgodnie z instrukcjami podanymi na etykiecie, można wykonywać posiewy do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację przez zalecany okres, również przez 6 tygodni w przypadku pożywek mykologicznych. Przed posiewem ogrzać podłoże do temperatury pokojowej.

Pogorszenie jakości produktu: Nie używać probówek, jeżeli są widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, zmiana zabarwienia, wysychanie lub inne, świadczące o pogorszeniu jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI

Dostępne są różne techniki postępowania z próbkami umożliwiającymi uzyskanie hodowli. Szczegółowe informacje znajdują się w odpowiednich pozycjach piśmiennictwa.^{10,11} Probki należy pobrać przed podaniem środków przeciwbakteryjnych. Konieczne jest zapewnienie szybkiej dostawy do laboratorium.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały: Sabouraud Dextrose Agar lub Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

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

Procedura testowa: Stosować techniki aseptyczne.

Upłynnić podłoże agarowe w probówkach w rozmiarze A poprzez ogrzanie ich we wrzącej łaźni wodnej*, ochłodzić do temperatury 45 – 50°C i rozlać do płytek Petriego. Odczekać co najmniej 30 min na zestalenie się podłoża.

W przypadku płytek i butelek posiać pasmowo próbkę sterylną eżak jak najszybciej po jej dostarczeniu do laboratorium, w taki sposób, żeby uzyskać pojedyncze kolonie. Informacje dotyczące obróbki i posiewu próbek znaleźć można w odpowiednich pozycjach piśmiennictwa.^{3,4}

Gotowe podłoża skośne w probówkach służą głównie do podtrzymywania wzrostu czystych hodowli lub do innych celów.

Na podłożach można wykonywać posiewy do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację do 6 tygodni.

W celu izolacji grzybów z potencjalnie zanieczyszczonych próbek należy jednocześnie nanieść próbkę na podłoże selektywne i nieselektywne. Inkubować pojemniki w temperaturze 25 – 30°C, w środowisku o zwiększonej wilgotności. Wszystkie hodowle należy oceniać pod względem wzrostu grzybów przynajmniej raz w tygodniu i trzymać je 4 – 6 tygodni, zanim uzna się wynik za ujemny.

***UWAGA:** Nie zaleca się korzystania z kuchenki mikrofalowej.

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

Każda partia podłoża została przetestowana przy użyciu odpowiednich drobnoustrojów do kontroli jakości. Ten rodzaj testowania jest zgodny ze specyfikacją produktu i standardami CLSI, jeśli mają zastosowanie. Jak zwykle, testy należy wykonać zgodnie z obowiązującymi wymogami kontroli jakości, wynikającymi z przepisów miejscowych, stanowych, federalnych lub krajowych, wymogami akredytacji i/lub rutynowymi procedurami kontroli jakości w danym laboratorium.

Aby określić pH podłoża w probówkach i butelkach oraz podłoża marki **Mycoflask** metodą potencjometryczną, należy wykorzystać pojedynczą elektrodę o odpowiednio niewielkich rozmiarach dopasowanych do probówek. Końcówkę elektrody należy umieścić w centralnej części masy agaru w półstałym lub stałym podłożu.

X WYNIKI

Po odpowiednim okresie inkubacji pojemniki powinny zawierać pojedyncze kolonie w miejscach pasmowego posiewu oraz wzrost zlewny w obszarach gęstego zaszczepienia.

Uzyskanie czystych hodowli grzybów może wymagać przeniesienia rosnących drobnoustrojów z podłoża skośnych na podłoża płytkowe.

Skontrolować pojemniki, poszukując kolonii grzybów wykazujących typowe cechy morfologii w badaniu mikroskopowym oraz w ocenie kolonii.^{4,12} W celu potwierdzenia wyników obserwacji należy wykonać testy biochemiczne oraz badania serologiczne.

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

Niektóre grzyby (np. *Blastomyces dermatitidis*) mogą nie wzrastać na omawianym podłożu wskutek wysokiej zawartości węglowodanu.¹³

Do identyfikacji niezbędne są czyste kultury drobnoustrojów. W celu ostatecznej identyfikacji należy przeprowadzić badania morfologiczne, biochemiczne i/lub serologiczne. Dodatkowe informacje oraz zalecane procedury znajdują się w odpowiednich pozycjach piśmiennictwa.^{10,11}

XII CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA

Sabouraud Dextrose Agar

Przed dopuszczeniem do obrotu wszystkie partie podłoża Sabouraud Dextrose Agar sprawdza się pod kątem ich skuteczności. Za pomocą ezy skalibrowanej do objętości 0,01 mL reprezentatywne próbki z danej partii są zaszczipiane pasmowo świeżymi hodowlami grzybów *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533) i *Candida albicans* (ATCC 60193) na podłożu bulionowym. Po upływie 2, 5 i 7 dni inkubacji w temperaturze 25 – 30°C kontroluje się pojemniki, oceniając stopień wzrostu i zabarwienie kolonii. *C. albicans* wykazuje wzrost od dość dobrego do intensywnego z koloniami barwy od białej do kremowej. *T. mentagrophytes* wykazuje wzrost od dość dobrego do intensywnego z koloniami barwy od białej do kremowej lub jasnobrązowej.

Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

Przed dopuszczeniem do obrotu wszystkie partie podłoża Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol sprawdza się pod kątem ich skuteczności. Za pomocą ezy skalibrowanej do objętości 0,01 mL reprezentatywne próbki z danej partii są zaszczipiane pasmowo świeżymi hodowlami grzybów *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), *Candida albicans* (ATCC 60193), *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) na podłożu bulionowym oraz hodowlą *Escherichia coli* (ATCC 25922) na podłożu **Trypticase** Soy Broth. Po upływie 2, 5 i 7 dni inkubacji w temperaturze 25 – 30°C kontroluje się pojemniki, oceniając stopień wzrostu i zabarwienie kolonii. *C. albicans* wykazuje wzrost od dość dobrego do intensywnego z koloniami barwy od białej do kremowej. *T. mentagrophytes* wykazuje wzrost od dość dobrego do intensywnego z koloniami barwy od białej. *A. brasiliensis* wykazuje wzrost od dość dobrego do intensywnego z koloniami barwy od brązowej do czarnej. Wzrost *E. coli* ulega lekkiemu lub całkowitemu zahamowaniu.

XIII DOSTĘPNOŚĆ

Nr kat.	Opis
221012	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants, opakowanie zawierające 10 probówek w rozmiarze A
221013	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants, karton zawierający 100 probówek w rozmiarze A
296182	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Deepes (Pour Tubes), 20 mL, karton zawierający 100 probówek w rozmiarze A
221136	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar, butelki Mycoflask , opakowanie zawierające 10 sztuk
221825	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol Slants, karton zawierający 100 probówek w rozmiarze A
221314	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol, butelki Mycoflask , opakowanie zawierające 10 sztuk

XIV PIŚMIENICTWO

1. Sabouraud, R. 1892. Contribution a l'etude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bacteriologique sur la pluralite des trichophytons de l'homme. Ann. Dermatol. Syphil. 3:1061-1087.
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. Haley, L.D., J. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. Cumitech II, Practical methods for culture and identification of fungi in the clinical microbiology laboratory. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Kane, J., and R.C. Summerbell. 1999. *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*, and agents of superficial mycoses, p. 1275-1294. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Lorian, V. (ed.) 1991. Antibiotics in laboratory medicine, 3rd ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
7. 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.
8. 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.
9. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to 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.
10. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.

12. Larone, D.H. 1995. Medically important fungi: a guide to identification, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Flores, M., and D. Welch. 1992. Mycology. Culture media, p. 6.7.1.-6.7.3. *In* H.D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol.1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

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 all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD