



BBL Sabouraud Dextrose Agar BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

L007492 • Rev. 12 • Outubro 2015

PROCEDIMENTOS DE CONTROLO DE QUALIDADE (Opcional)

I INTRODUÇÃO

O Sabouraud Dextrose Agar (Ágar dextrose Sabouraud) é um meio não selectivo para cultura e manutenção de fungos patogénicos e não patogénicos, especialmente dermatófitos. A selectividade é conseguida através da adição de cloranfenicol.

II PROCEDIMENTO DO TESTE DE DESEMPENHO

1. Liquefaça o Sabouraud Dextrose Agar Deeps em tubos A, aquecendo-os em água a ferver.* Arrefeça até 45 – 50°C, verta para placas de Petri e deixe solidificar durante pelo menos 30 min.

*NOTA: Não se recomenda a utilização do forno de microondas.

2. Inocule as amostras representativas com as culturas listadas abaixo.

- a. Utilizando culturas de fungos em meio líquido (com um máximo de 7 dias), semeie, fazendo riscas sobre a superfície do agar com uma ansa calibrada de 0,01 mL. Para a *Escherichia coli*, inocule uma ansa utilizando diluições de 10^{-1} de culturas em **Trypticase** Soy Broth com 18 a 24 horas.
- b. Incube os recipientes de teste a uma temperatura entre 25 e 30°C numa atmosfera aeróbia. As tampas dos tubos e frascos com meios devem ser desapertadas.
- c. Inclua ágar inclinado de Sabouraud Dextrose Agar como controlos não selectivos quando estiverem a ser testados meios de Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol (Ágar dextrose Sabouraud com cloranfenicol).

NOTA: Trabalhe com o *A. brasiliensis* (ATCC 16404) numa câmara de segurança biológica.

3. Examine os recipientes durante um período máximo de 7 dias, verificando se existe crescimento e pigmentação, e observando a selectividade no meio que contém cloranfenicol.

4. Resultados esperados

Para Sabouraud Dextrose Agar

Microrganismos de controlo do CLSI (Estirpes ATCC)

**Candida albicans* (60193)..... Crescimento a 72 h

**Trichophyton mentagrophytes* (9533) Crescimento a 72 h

Para Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

**Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 Crescimento

**Candida albicans* ATCC 10231 Crescimento

**Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 Crescimento

**Escherichia coli* ATCC 25922 Inibição (parcial a completa)

*Estirpe do microrganismo recomendada para o controlo de qualidade do utilizador.

III CONTROLO DE QUALIDADE ADICIONAL

1. Examine os tubos ou os frascos como descrito em "Deterioração do Produto".
2. Examine visualmente os tubos ou frascos representativos para se certificar de que quaisquer defeitos físicos existentes não irão interferir com a utilização.
3. Determine o pH, através de potenciometria, à temperatura ambiente, para cumprimento da especificação de pH de $5,6 \pm 0,2$.
4. Incube os tubos ou frascos representativos não inoculados de 20 a 25°C e de 30 a 35°C e examine-os após 7 dias, verificando se existe contaminação microbiana.

INFORMAÇÕES SOBRE O PRODUTO

IV UTILIZAÇÃO PRETENDIDA

O Sabouraud Dextrose Agar é utilizado em procedimentos qualitativos para cultura de dermatófitos. O meio tornou-se mais selectivo para os fungos pela adição de cloranfenicol.

V RESUMO E EXPLICAÇÃO

O Sabouraud Dextrose Agar é um meio de utilização geral concebido por Sabouraud para a cultura de dermatófitos.¹ O pH baixo, de aproximadamente 5,6, é favorável ao crescimento de fungos, especialmente de dermatófitos, e ligeiramente inibidor para bactérias contaminantes que possam estar presentes em amostras clínicas.²⁻⁴ A adição de cloranfenicol é uma modificação concebida para aumentar a inibição bacteriana e permitir o isolamento de fungos oportunistas em amostras contaminadas. Estes fungos são responsáveis por infecções clínicas semelhantes às dos fungos dermatófitos, embora sejam sensíveis à cicloheximida incluída em alguns meios para fungos selectivos.^{3,4}

VI PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO

O Sabouraud Dextrose Agar é um meio de peptona suplementado com dextrose para suporte do crescimento de fungos. As peptonas são fontes de factores de crescimento nitrogenados. A dextrose proporciona uma fonte de energia para o

desenvolvimento de microrganismos. O cloranfenicol é um antibiótico de largo espectro, que inibe uma grande variedade de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, quando adicionado à formulação.⁵

VII REAGENTES

Sabouraud Dextrose Agar

Fórmula* aproximada por litro de água purificada

Hidrolisado pancreático de caseína 5,0 g

Hidrolisado péptico de tecido animal 5,0 g

Dextrose 40,0 g

Ágar 15,0 g

*Ajustada e/ou suplementada conforme necessário para cumprir os critérios do desempenho.

O Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol contém 0,05 g de cloranfenicol além dos ingredientes acima indicados.

Advertências e precauções

Para diagnóstico *in vitro*.

Os tubos que têm as tampas fechadas devem ser abertos com cuidado para evitar lesões provocadas pela quebra do vidro.

Nas amostras podem existir microrganismos patogénicos, incluindo os vírus das hepatites e o vírus da imunodeficiência humana. No manuseamento de todos os itens contaminados com sangue e outros fluidos corporais, devem ser seguidas as "Precauções padrão"⁶⁻⁹ e as linhas de orientação da instituição. Após a utilização e antes de serem eliminados, esterilize em autoclave os tubos preparados, recipientes de amostras e outros materiais contaminados.

Instruções de armazenamento

Após a recepção, armazene os tubos em local escuro entre 2 e 8°C. Evite congelar ou aquecer excessivamente. Abra apenas quando estiver pronto a utilizar. Minimizar a exposição à luz. Os meios que se encontram dentro de tubos, armazenados conforme indicado no rótulo, até pouco antes de serem utilizados, podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados durante o período de incubação recomendado (até 6 semanas para os meios de micologia). Antes da inoculação, deixe o meio aquecer até à temperatura ambiente.

Deterioração do produto

Não utilizar os tubos que apresentem sinais de contaminação microbiana, descoloração, secura ou outros sinais de deterioração.

VIII COLHEITA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

As amostras adequadas para cultura podem ser preparadas utilizando várias técnicas. Para obter informações pormenorizadas, consulte os textos apropriados.^{10,11} As amostras devem ser obtidas antes de serem administrados agentes antimicrobianos. Devem tomar-se as providências necessárias para a entrega imediata no laboratório.

IX PROCEDIMENTO

Material fornecido

Sabouraud Dextrose Agar ou

Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

Material necessário mas não fornecido

Meios de cultura auxiliares, reagentes, microrganismos de controlo da qualidade e equipamento laboratorial, conforme necessário.

Procedimento do teste

Utilize técnicas assépticas.

Liquefaça o agar contido nos tubos A, aquecendo-os em água a ferver*, arrefeça até 45 – 50°C e verta para placas de Petri. Deixe solidificar durante, pelo menos, 30 min.

Com as placas e frascos, utilize uma ansa de inoculação estéril para semear a amostra, fazendo riscas sobre o ágar, de forma a obter colónias isoladas, o mais rapidamente possível após a recepção no laboratório. Consulte as referências bibliográficas adequadas para obter informações sobre o processamento e inoculação de outras amostras.^{3,4}

Os tubos com ágar inclinado preparado destinam-se sobretudo a ser utilizados com culturas puras para manutenção ou outros fins.

Os meios podem ser inoculados até ao fim do prazo de validade e incubados até um período de 6 semanas.

Para o isolamento de fungos a partir de amostras potencialmente contaminadas, deve cultivar-se um meio selectivo em conjunto com um meio não selectivo. Incube os recipientes a uma temperatura entre 25 e 30°C com humidade aumentada. Todas as culturas devem ser examinadas uma vez por semana, pelo menos, verificando se existe crescimento de fungos. Devem manter-se durante 4 a 6 semanas antes de se apresentarem resultados negativos.

*NOTA: Não se recomenda a utilização do forno de microondas.

Controlo de qualidade pelo utilizador

Consulte "Procedimentos do controlo de qualidade".

Cada lote de meio foi testado com microrganismos de controlo de qualidade adequados e estes testes cumprem as especificações do produto e as normas CLSI, quando aplicáveis. Como é norma, os testes de CQ devem ser realizados de acordo com os regulamentos locais, distritais, federais ou nacionais, os requisitos de acreditação e/ou os procedimentos padrão de controlo de qualidade do laboratório.

Deverá ser utilizado um único eléctrodo de tamanho suficientemente pequeno que caiba nos tubos para determinar o pH, através de potenciometria, dos meios em tubo e frasco e da marca **Mycoflask**. A ponta do eléctrodo deve estar posicionada na zona central da superfície do agar num meio semi-sólido ou sólido.

X RESULTADOS

Após uma incubação suficiente, os recipientes devem exibir colónias isoladas nas áreas que foram semeadas com riscas e um crescimento confluyente nas áreas de inoculação intensa.

Poderá ser necessária a transferência da cultura do agar inclinado para meios em placa, de forma a obter culturas puras de fungos.

Examine os recipientes, verificando se existem colónias de fungos que exibam a morfologia microscópica e de colónias típicas.^{4,12} Devem realizar-se testes bioquímicos e procedimentos serológicos para confirmar os resultados.

XI LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Alguns fungos (p. ex., *Blastomyces dermatitidis*) poderão não ser isolados neste meio devido ao elevado teor em hidratos de carbono.¹³

Para serem identificados, os organismos têm que estar numa cultura pura. Devem realizar-se testes morfológicos, bioquímicos e/ou serológicos para uma identificação final. Para obter informações pormenorizadas e sobre os procedimentos recomendados, consulte os textos apropriados.^{10,11}

XII CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

Sabouraud Dextrose Agar

Antes de serem comercializados, todos os recipientes de Sabouraud Dextrose Agar são testados relativamente às características do desempenho. Utilizando uma ansa calibrada de 0,01 mL, são inoculadas amostras representativas do lote com culturas recentes de fungos *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533) e *Candida albicans* (ATCC 60193) em meio líquido. Os recipientes são observados, relativamente ao crescimento e pigmentação das colónias, após 2, 5 e 7 dias de incubação entre 25 e 30°C. *A. C. albicans* demonstra um crescimento razoável a elevado com colónias de cor branca a bege. O *T. mentagrophytes* demonstra um crescimento razoável a elevado com colónias de cor branca, bege ou castanha-amarelada.

Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

Antes de serem comercializados, todos os recipientes de Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol são testados relativamente às características do desempenho. Utilizando uma ansa calibrada de 0,01 mL, são inoculadas amostras representativas do lote com culturas recentes de fungos *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), *Candida albicans* (ATCC 60193) e *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) em meio líquido, e com uma cultura de *Escherichia coli* (ATCC 25922) em **Trypticase** Soy Broth. Os recipientes são observados, relativamente ao crescimento e pigmentação das colónias, após 2, 5 e 7 dias de incubação entre 25 e 30°C. *A. C. albicans* demonstra um crescimento razoável a elevado com colónias de cor branca a bege. O *T. mentagrophytes* demonstra um crescimento razoável a elevado com colónias de cor branca, bege ou castanha-amarelada. O *A. brasiliensis* exibe um crescimento razoável a elevado com colónias de cor castanha a preta. O crescimento de *E. coli* é apenas ligeiro ou totalmente inibido.

XIII APRESENTAÇÃO

N.º de cat. Descrição

221012	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants, embalagem de 10 tubos tamanho A
221013	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants, caixa de 100 tubos tamanho A
296182	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Deepes (Pour Tubes), 20 mL, caixa de 100 tubos tamanho A
221136	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar, frascos Mycoflask , embalagem de 10
221825	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol Slants, caixa de 100 tubos tamanho A
221314	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol, frascos Mycoflask , embalagem de 10

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Sabouraud, R. 1892. Contribution a l'etude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bacteriologique sur la pluralite des trichophytions 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*, *Microsporium*, *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. Tenenbaum (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.

Assistência Técnica e Suporte da BD Diagnostics: contacte o representante local da BD ou visite 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