



BBL Sabouraud Dextrose Agar
BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol
L007492 • Rev. 12 • Október 2015

POSTUPY PRI KONTROLE KVALITY (Opcionalno)

I ÚVOD

Sabouraud Dextrose Agar (Sabouardov dextrózový agar) je neselektívna pôda určená na kultiváciu a udržiavanie patogénnych a nepatogénnych húb, predovšetkým dermatofytov. Pridaním chloramfenikolu získa pôda selektívny charakter.

II REALIZÁCIA TESTU

1. Sabouraud Dextrose Agar Deep's skvapalnite v skúmavkách veľkosti A povarením vo vodnom kúpeli.* Vychladte na teplotu 45 – 50 °C, nalejte do Petriho misiek a nechajte najmenej 30 minút, aby stuhol.

***POZNÁMKA.** Použitie mikrovlnnej rúry sa neodporúča.

2. Naočkujte reprezentatívne vzorky nižšie uvedenými kultúrami.

a. Pomocou kalibrovanej slučky s objemom 0,01 mL naočkujte povrch kultúrami húb z bujónu (nie staršími ako 7 dní). Pre *Escherichia coli* naočkujte jednu slučku do kultúry sójového bujónu **Trypticase** zriedeného v pomere 10⁻¹ starého 18 až 24 hod.

b. Inkubujte nádoby s testovanou vzorkou pri teplote 25 až 30 °C v aeróbnom prostredí. Uzávery na skúmavkách a fľašiach s pôdou by mali byť uvoľnené.

c. Pri testovaní Sabouardovho dextrózového agaru s chloramfenikolom inkubujte ako neselektívnu kontrolnú vzorku aj kultúru na šikmom Sabouardovom dextrózovom agare.

POZNÁMKA. S kmeňom *A. brasiliensis* (ATCC 16404) pracujte v biologickej bezpečnostnej komore.

3. V priebehu siedmych dní kontrolujte rast a pigmentáciu v nádobách a selektivitu na pôde obsahujúcej chloramfenikol.

4. Očakávané výsledky

Sabouardov dextrózový agar

Testovacie organizmy CLSI (kmene ATCC)

**Candida albicans* (60193).....Rast pri 72-hodinovej

**Trichophyton mentagrophytes* (9533)Rast pri 72-hodinovej

Sabouardov dextrózový agar s chloramfenikolom

**Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404Rast

**Candida albicans* ATCC 10231.....Rast

**Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533.....Rast

**Escherichia coli* ATCC 25922Inhibícia (čiastočná alebo úplná)

*Kmeň odporúčaný na kontrolu kvality používateľom.

III DODATOČNÁ KONTROLA KVALITY

1. Skontrolujte skúmavky alebo fľaše podľa popisu v časti Znehodnotenie produktu.

2. Vizuálne skontrolujte niekoľko skúmaviek alebo fliaš, aby ste zistili prípadné poškodenie, ktoré by bránilo ich použitiu.

3. Pri izbovej teplote stanovte pomocou potenciometra hodnotu pH, aby ste skontrolovali zachovanie hodnoty 5,6 ± 0,2.

4. Inkubujte niekoľko nenaočkovaných skúmaviek alebo fliaš pri teplote 20 až 25 °C a 30 až 35 °C. Po 7 dňoch skontrolujte mikrobiálnu kontamináciu.

INFORMÁCIE O PRODUKTE

IV POUŽITIE

Sabouraud Dextrose Agar (Sabouardov dextrózový agar) sa používa v rámci kvalitatívnych postupov pri kultivácii dermatofytov. Selektivita pôdy vo vzťahu k hubám sa zvýši pridaním chloramfenikolu.

V SÚHRN A VYSVETLENIE

Sabouardov dextrózový agar je všeobecne použiteľná pôda, ktorú vytvoril Sabouraud na kultiváciu dermatofytov.¹ Nízka hodnota pH, približne 5,6, vytvára priaznivé podmienky pre rast húb, najmä dermatofytov, a čiastočne inhibuje rast kontaminujúcich baktérií v klinických vzorkách.²⁻⁴ Pridanie chloramfenikolu zvyšuje inhibíciu baktérií a umožňuje izolovať z kontaminovaných vzoriek príležitostne sa vyskytujúce huby spôsobujúce klinické infekcie podobné dermatofytóze, ktoré sú citlivé na cycloheximid obsiahnutý v niektorých selektívnych pôdach určených pre huby.^{3,4}

VI PRINCÍPY METÓDY

Sabouardov dextrózový agar je peptónová pôda obsahujúca dextrózu, ktorá podporuje rast húb. Peptóny sú zdrojom dusíkových rastových faktorov. Dextróza je zdrojom energie pre rast mikroorganizmov. Chloramfenikol je širokospektrálne antibiotikum, ktoré po pridaní do agarového základu inhibuje širokú škálu gramnegatívnych a grampozitívnych baktérií.⁵

VII REAGENTY

Sabouraud Dextrose Agar

Približné zloženie* na liter purifikovanej vody

Pankreatický kazeinový hydrolyzát5,0 g

Peptický hydrolyzát zo živočíšneho tkaniva5,0 g

Dextróza40,0 g

Agar15,0 g

*Upravené alebo doplnené podľa potreby tak, aby boli splnené analytické parametre.

Produkt Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol (Sabouraudov dextrózový agar s chloramfenikolom) obsahuje okrem vyššie uvedených prísad aj 0,05 g chloramfenikolu.

Varovania a upozornenia

Na diagnostiku *in vitro*.

Uzavreté skúmavky otvárajte opatrne, aby ste ich nerozbili a nezranili sa úlomkami skla.

V klinických vzorkách sa môžu vyskytovať patogénne mikroorganizmy vrátane vírusov hepatitídy a vírusu HIV. Pri práci so všetkými materiálmi kontaminovanými krvou a inými telesnými tekutinami dodržujte štandardné pracovné postupy⁶⁻⁹ a smernice príslušných inštitúcií. Pred likvidáciou sterilizujte všetky použité skúmavky, nádoby so vzorkami a iný kontaminovaný materiál autoklávom.

Pokyny na uskladnenie

Dodané skúmavky skladujte na tmavom mieste pri teplote 2 až 8 °C. Nezmrazujte ani nevystavujte nadmernej teplote. Otvorte až pred použitím. Chráňte pred svetlom. Pôdy v skúmavkách skladovaných podľa pokynov a otvorených až tesne pred použitím je možné očkovať až do dátumu použiteľnosti a inkubovať počas odporúčaného času inkubácie vrátane až šiestich týždňov pre mykologické pôdy. Pred inkubáciou pôdu nechajte zohriať na laboratórnu teplotu.

Znehodnotený výrobok

Skúmavky nepoužívajte, ak sú na nich viditeľné známky mikrobiálnej kontaminácie, zmeny farby, vysušenia alebo iné znaky poškodenia.

VIII ODBER VZORKY A MANIPULÁCIA SO VZORKOU

Vzorky vhodné na kultivovanie sa môžu odberať rôznymi spôsobmi. Podrobnejšie informácie nájdete v príslušnej literatúre.^{10,11} Vzorky by sa mali odberať ešte pred začiatkom podávania antibiotík. Je potrebné zabezpečiť rýchlu prepravu vzoriek do laboratória.

IX POSTUP

Dodávaný materiál

Sabouraud Dextrose Agar alebo

Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

Potrebný materiál, ktorý nie je súčasťou dodávky

Prídavné kultivačné médiá, činidlá, organizmy určené na kontrolu kvality a potrebné laboratórne vybavenie.

Postup testu

Používajte aseptickú techniku.

Agar nachádzajúci sa v skúmavkách veľkosti A povarte vo vodnom kúpeli*, nechajte vychladnúť na 45 – 50 °C a nalejte do Petriho misiek. Nechajte ho minimálne 30 minút tuhnúť.

Pomocou misiek, fliaš a sterilnej očkovacej kľučky, ktorou odoberiete izolované kolónie, naočkujte vzorky čo najskôr po ich doručení do laboratória. Informácie o spracovaní a očkovaní vzoriek nájdete v príslušnej literatúre.^{3,4}

Hotový šikmý agar v skúmavkách je určený predovšetkým na udržiavanie alebo iné spracovanie čistých kultúr.

Pôdy je možné očkovať až do dátumu použiteľnosti a inkubovať počas 6 týždňov.

Na izoláciu húb z potenciálne kontaminovaných vzoriek je potrebné okrem neselektívnej pôdy naočkovať aj selektívnu pôdu. Inkubujte nádoby pri teplote 25 až 30 °C pri vyššej vlhkosti. Vo všetkých kultúrach je potrebné minimálne raz týždenne skontrolovať rast húb. Vzorky je možné označiť za negatívne až po 4 až 6 týždňoch pozorovania.

***POZNÁMKA.** Použitie mikrovlnnej rúry sa neodporúča.

Kontrola kvality

Informácie nájdete v časti Postupy pri kontrole kvality.

Svaka séria podloga íspítana je korístečí odgovarajúce organizme za kontrolu kvalíteta í ta íspítavíanja zadovoljavaju spetífikacíju proízvoda í CLSI standarde, gde je to bitno. Kao í uvek, íspítavíanje kontrole kvalíteta treba da se obavi u skladu sa važečíim lokalnim, državnim, saveznim íli nacionalnim propisima, zahtevima za akreditaciju í/íli standardnim postupcima kontrole kvalíteta vaše laboratorije.

Na potenciometrické stanovenie pH pôd v skúmavkách, fľaškách a fľaškách typu **Mycoflask** sa môže použiť jediná elektróda, ktorá musí byť dostatočne malá, aby vošla do skúmaviek. Koniec elektródy musí byť umiestnený v strednej časti agarovej hmoty polotuhej alebo tuhej pôdy.

X VÝSLEDKY

Po dostatočnej inkubácii by sa v nádobách mali na zaočkovaných miestach objaviť izolované kolónie a v oblastiach so silným naočkovaním súvislý rast.

Pri získavaní čistých kultúr húb bude prípadne potrebné preniesť rastúce kultúry zo šikmého agaru na pôdu v miskách.

Skontrolujte v skúmavkách výskyt kolónií húb, ktoré vykazujú typickú mikroskopickú morfológiu kolónií.^{4,12} Zistenia by mali byť potvrdené biochemickými testami a sérologickými postupmi.

XI OBMEDZENIA POSTUPU

Vysoký obsah uhľohydrátu môže zabrániť kultivácii niektorých húb (napr. *Blastomyces dermatitidis*) na tejto pôde.¹³

Na identifikáciu organizmov je potrebné použiť čistou kultúru. Konečná identifikácia si vyžaduje ďalšie morfologické, biochemické, prípadne sérologické testy. Podrobnejšie informácie a odporúčané postupy nájdete v príslušnej literatúre.^{10,11}

XII VLASTNOSTI POSTUPU

Sabouraud Dextrose Agar (Sabouardov dextrózový agar)

Pred uvedením na trh sa testuje účinnosť každej súpravy s nádobkami so Sabouardovým dextrózovým agarom. Reprezentatívne vzorky z každej súpravy sa pomocou kalibrovannej kľučky s objemom 0,01 mL naočkujú čerstvými kultúrami húb *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533) a *Candida albicans* (ATCC 60193) kultivovanými na bujóne. Po 2, 5 a 7 dňoch inkubácie pri teplote 25 až 30 °C sa zaznamená rast a pigmentácia kolónií v nádobách. U kvasinky *C. albicans* je viditeľný priemerný až silný rast bielych až krémových kolónií. U huby *T. mentagrophytes* sa prejavuje priemerný až silný rast bielych, krémových až svetlohnedých kolónií.

Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol (Sabouardov dextrózový agar s chloramfenikolom)

Pred uvedením na trh sa testuje účinnosť každej súpravy s nádobkami so Sabouardovým dextrózovým agarom s chloramfenikolom. Reprezentatívne vzorky z každej súpravy sa pomocou kalibrovannej kľučky s objemom 0,01 mL naočkujú čerstvými kultúrami húb *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), *Candida albicans* (ATCC 60193), *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) a baktérie *Escherichia coli* (ATCC 25922) kultivovanej na sójovom bujóne **Trypticase**. Po 2, 5 a 7 dňoch inkubácie pri teplote 25 až 30 °C sa zaznamená rast a pigmentácia kolónií v nádobách. U kvasinky *C. albicans* je viditeľný priemerný až silný rast bielych až krémových kolónií. U huby *T. mentagrophytes* sa prejavuje priemerný až silný rast bielych kolónií. U huby *A. brasiliensis* prebieha priemerný až silný rast hnedých až čiernych kolónií. Rast baktérie *E. coli* je čiastočne alebo úplne inhibovaný.

XIII DOSTUPNOSŤ

Kat. č.	Opis
221012	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants, šikmý agar, 10 skúmaviek veľkosti A v balení
221013	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants, šikmý agar, 100 skúmaviek veľkosti A v kartóne
296182	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Deeps (nalievacie skúmavky), 20 mL, 100 skúmaviek veľkosti A v balení
221136	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar, Mycoflask Bottles, ploché fľaše typu Mycoflask , 10 ks v balení
221825	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol Slants, šikmý agar, 100 skúmaviek veľkosti A v kartóne
221314	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol, ploché fľaše typu Mycoflask , 10 fliaš v balení

XIV POUŽITÁ LITERATÚRA

1. Sabouraud, R. 1892. Contribution a l'etude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bacteriologique sur la pluralite des trichophyton 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. 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.

Technický servis BD Diagnostics: obráťte sa na miestneho zástupcu spoločnosti BD alebo 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