

POSTUPY PRI KONTROLE KVALITY

I ÚVOD

Táto pôda sa používa na kultiváciu dermatofytov a iných patogénnych a nepatogénnych húb z klinických a neklinických vzoriek.

II REALIZÁCIA TESTU

1. Reprezentatívne vzorky naočkujte kultúrami uvedenými nižšie.
 - a. Pri hubách *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 a *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 očkujte priamo použitím 0,01 mL kľučky kultúry, ktorá vyrástla na Sabouraudovom dextrózovom agare **BBL Sabouraud Dextrose Agar**.
 - b. Pri kvasinke *Candida albicans* ATCC 10231 a baktérii *Escherichia coli* ATCC 25922 očkujte použitím 0,01 mL suspenzií fyziologického roztoku, ktoré sú zriedené tak, aby bola dosiahnutá hodnota $10^3 - 10^4$ CFU.
2. Inkubujte skúmavky s uvoľnenými uzávermi pri teplote 25 – 30°C v aeróbnom prostredí do 7 dní.
3. Očakávané výsledky

Organizmy	ATCC	Izolácia
* <i>Candida albicans</i>	10231	Rast dobrý až silný
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Rast dobrý až silný
* <i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Inhibícia (čiastočná až úplná)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibícia (čiastočná až úplná)

*Kmeň odporúčaný na kontrolu kvality používateľom.

III DODATOČNÁ KONTROLA KVALITY

1. Skontrolujte skúmavky podľa popisu v časti Znehodnotenie produktu.
2. Vizuálne skontrolujte niekoľko skúmaviek, aby ste zistili prípadné poškodenie, ktoré by bránilo ich použitiu.
3. Pri izbovej teplote stanovte pomocou potenciometra hodnotu pH, aby ste skontrolovali zachovanie hodnoty $5,6 \pm 0,2$.
4. Inkubujte niekoľko nenaočkovaných skúmaviek pri teplote 20 až 25 °C a 30 až 35 °C. Po 7 dňoch skontrolujte mikrobiálnu kontamináciu.

INFORMÁCIE O PRODUKTE

IV PREDPOKLADANÝ ÚČEL POUŽITIA

Táto pôda sa používa pri kvalitatívnych postupoch na kultiváciu dermatofytov a iných patogénnych a nepatogénnych húb z klinických a neklinických vzoriek.

V ZHRNUTIE A VYSVETLENIE

Sabouraud Dextrose Agar (Sabouraudov dextrózový agar) je pôda na všeobecné použitie, ktorú vyvinul Sabouraud na kultiváciu dermatofytov.¹ Nízka hodnota pH (približne 5,6) vytvára priaznivé podmienky na rast húb, najmä dermatofytov, a inhibuje rast kontaminujúcich baktérií v klinických vzorkách.²

Kyslé pH pôdy však môže inhibovať aj niektoré druhy húb.² Pridaním antimikrobiálnych látok sa zlepšuje množenie patogénnych húb zo vzoriek so silnou kontamináciou baktériami a saprofytickými hubami.³

VI PRINCÍP METÓDY

Sabouraudov dextrózový agar je peptónová pôda obsahujúca dextrózu, ktorá podporuje rast húb. Pridanie antibiotík a fungicídnych látok redukuje rast baktérií a saprofytických húb, čo má vplyv na množenie dermatofytov a húb spôsobujúcich systémové mykózy.³ Chloramfenikol je širokospektrálne antibiotikum inhibujúce veľké množstvo gramnegatívnych a grampozitívnych baktérií. Cykloheximid je fungicídna látka, ktorá je primárne aktívna proti saprofytickým hubám a neinhibuje kvasinky ani dermatofyty.

VII REAGENCIE

Sabouraud Dextrose CC Agar

Približné zloženie* na liter purifikovanej vody

Pankreatický kazeínový hydrolyzát	5,0 g	Agar	15,0 g
Peptický hydrolyzát zo živočíšneho tkaniva	5,0 g	Chloramfenikol	0,05 g
Dextróza	40,0 g	Cykloheximid	0,5 g

*Upravené alebo doplnené podľa potreby tak, aby boli splnené kritériá účinnosti.

Varovania a upozornenia. Len na diagnostické použitie *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 postupy⁴⁻⁷ a smernice príslušných inštitúcií. Pred likvidáciou sterilizujte pripravené skúmavky a nádoby, v ktorých boli vzorky a ostatné kontaminované materiály, autoklávom.

Pokyny na skladovanie: Dodané skúmavky skladujte na tmavom mieste pri teplote 2 až 8 °C. Nezmrazujte ani nevystavujte nadmernej teplote. Otvorte až bezprostredne pred použitím. Chráňte pred svetlom. Pôdy v skúmavkách skladovaných podľa pokynov a otvorených až bezprostredne pred použitím je možné očkovať až do dátumu použiteľnosti a inkubovať až 6 týždňov. Pred očkovaním nechajte pôdu zohriať na izbovú teplotu.

Znehodnotenie produktu: Pôdu nepoužívajte, ak vykazuje viditeľné známky mikrobiálnej kontaminácie, zmeny farby, vysušenia alebo iné znaky poškodenia.

VIII ODOBERANIE VZORIEK A MANIPULÁCIA

Ďalšie informácie o odbere vzoriek a manipulácii s nimi nájdete v príslušnej literatúre.⁸⁻¹¹

IX POSTUP

Dodávaný materiál: Sabouraud Dextrose CC Agar

Ďalšie potrebné materiály, ktoré však netvorí súčasť dodávky: Prídavné kultivačné médiá, činidlá, organizmy určené na kontrolu kvality a potrebné laboratórne vybavenie.

Postup testu: Dodržiavajte aseptické postupy.

Pôdu naočkujte čo najskôr po doručení vzorky do laboratória. Vzorku naočkujte na pôdu pomocou sterilnej očkovacej kľučky. Informácie o spracovaní a očkovaní vzoriek, ako sú tkanivá, šupinky kože, vlasy, kúsky nechťov a pod., nájdete v príslušnej literatúre.^{3,8-11}

Na izoláciu húb spôsobujúcich kožné mykózy je potrebné okrem selektívnej pôdy naočkovať aj neselektívnu pôdu. Skúmavky inkubuje pri teplote 25 až 30 °C.

Kontrola kvality užívateľom: Informácie nájdete v časti Postupy pri kontrole kvality.

Kontrola kvality sa musí uskutočňovať v súlade s platnými miestnymi alebo štátnymi nariadeniami, akreditačnými požiadavkami a štandardnými laboratórnymi postupmi na kontrolu kvality. Ďalšie informácie o vhodných postupoch pri kontrole kvality nájdete v relevantnej príručke vydané komisiou CLSI a v nariadeniach CLIA.

X VÝSLEDKY

Rast húb v skúmavkách skontrolujte minimálne raz za týždeň. Kultúry by sa mali uchovávať 4 až 6 týždňov, až potom ich možno označiť za negatívne.

XI OBMEDZENIA POSTUPU

Jedna pôda je zriedkavo schopná detegovať všetky organizmy s možným významom vo vzorke. Látky v selektívnych pôdach môžu inhibovať niektoré kmene požadovaných druhov alebo umožňovať rast druhov, ktoré mali pôvodne inhibovať, najmä ak sa tieto druhy vo vzorke nachádzajú vo veľkých množstvách. Vzorky kultivované na selektívnych pôdach by sa preto mali kultivovať aj na neselektívnych pôdach, aby sa získali dodatočné informácie a zabezpečilo sa množenie potenciálnych patogénov.

Na identifikáciu mikroorganizmov sa organizmus musí nachádzať v čistej kultúre. Konečná identifikácia si vyžaduje ďalšie morfológické, biochemické, prípadne sérologické testy. Podrobnejšie informácie a odporúčané postupy nájdete v príslušnej literatúre.^{3,8,9,11-13}

XII VLASTNOSTI POSTUPU

Pred uvedením na trh sa každá súprava Sabouraudovho dextrózového CC agaru testuje, aby sa overila jej očakávaná účinnosť. Reprezentatívne vzorky zo súpravy sa naočkujú priamo použitím húb *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 a *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, ktoré vyrástli na **BBL** Sabouraud Dextrose Agar. Vzorky sa testujú aj so suspenziami bežného fyziologického roztoku s baktériou *Escherichia coli* ATCC 25922 a kvasinkou *Candida albicans* ATCC 10231, ktoré sú zriadené tak, aby bola dosiahnutá hodnota 10³ až 10⁴ CFU. Skúmavky sa inkubujú s uvoľnenými uzávermi pri teplote 25 – 30°C v aeróbnom prostredí do 7 dní. Pri hubách *T. mentagrophytes* a *C. albicans* sa pozoruje mierny až silný rast. Huby *A. brasiliensis* a baktéria *E. coli* sú čiastočne až úplne inhibované.

XIII DOSTUPNOSŤ

Kat. č. **Popis**

297649 **BD BBL** Sabouraud Dextrose CC Agar, 10 ks šikmých pôd v balení, skúmavky veľkosti A

XIV LITERATÚRA

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.

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 BBL are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD.