



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



KVALITEEDIKONTROLI PROTSEDUURID (Valikuline)

I SISSEJUHATUS

Sabouraud Dextrose Agar (Sabouraud' dekstroosiagar) on mitteselektiivne sööde patogeensete ja mittepatoogeensete seente (eriti dermatofüütide) kultiveerimiseks. Selektiivsuse saavutamiseks lisatakse klooramfenikooli.

II RESULTATIIVSUSPROOVI PROTSEDUUR

1. Veeldage Sabouraud Dextrose Agar Deep (Sabouraud' dekstroosiagari söötmed) A-suurusel katsutites, keetes neid veevannis.* Jahutage temperatuurini 45–50 °C ja valage Petri tassile ning laske vähemalt 30 minutit tahkuda.
***MÄRKUS.** Mikrolaineahju ei soovitata kasutada.
2. Inokuleerige tüüpproove allpool loetletud kultuuridega.
 - a. Triibutage agari pinda 0,01 ml kalibreeritud silmusega, kasutades seenepuljongi kultuure (kuni 7 päeva vanused). *Escherichia coli* jaoks inokuleerige üks aas 18- kuni 24-tunnise **Trypticase** Soy Brothi (sojapuljongi) kultuuriga, mida on lahjendatud 10⁻¹.
 - b. Inkubeerige katseainumaid aeroobses keskkonnas temperatuuril 25–30 °C. Katsutis ja pudelis olevate söötmete korgid tuleb lahti keerata.
 - c. Klooramfenikooliga Sabouraud' dekstroosiagari kaldplaatide analüüsimisel lisage mitteselektiivse kontrollmaterjalina plaadid Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol (Sabouraud' dekstroosiagari klooramfenikooliga).
MÄRKUS. Töötage *A. brasiliensis*-ega (ATCC 16404) bioloogilises ohutuskapis.
3. Kontrollige mahuteid kuni 7 päeva kasvamise ja pigmentatsiooni suhtes ning selektiivsuse suhtes klooramfenikooli sisaldavas söötmes.
4. Oodatavad tulemused

Sabouraud' dekstroosiagar

CLSI organismid	ATCC	Väljakülvamine
* <i>Candida albicans</i>	60193	Kasv 72 tunni järel
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Kasv 72 tunni järel

Sabouraud' dekstroosiagar klooramfenikooliga

Organismid	ATCC	Väljakülvamine
* <i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Kasv
* <i>Candida albicans</i>	10231	Kasv
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Kasv
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibitsioon (osaline või täielik)

*Soovitav organismikülv kasutaja kvaliteedikontrolliks.

III TÄIENDAV KVALITEEDIKONTROLL

1. Uurige katsuteid või pudeleid, nagu on kirjeldatud jaotises „Toote riknemine”.
2. Uurige tüüpikatsuteid või -pudeleid ja veenduge, et mingi füüsiline defekt ei takista nende kasutamist.
3. Määrake toatemperatuuril potentsiomeetriselt pH, et järgida täpsustust 5,6 ± 0,2.
4. Inkubeerige inokuleerimata tüüpikatsuteid või -pudeleid temperatuuridel 20–25 °C ja 30–35 °C ning uurige neid 7 päeva pärast mikroobse saastumise suhtes.

TOOTETEAVE

IV SIHTOTSTARVE

Sabouraud' dekstroosiagarit kasutatakse dermatofüütide kultiveerimiseks kvalitatiivsetes protseduurides. Sööde muudetakse seente suhtes selektiivsemaks klooramfenikooli lisamisega.

V KOKKUVÕTE JA SELGITUS

Sabouraud' dekstroosiagar on üldotstarbeline sööde, mille Sabouraud töötas välja dermatofüütide kultiveerimiseks.¹ Madal pH (umbes 5,6) on soodne seente (eriti dermatofüütide) kasvuks ja kergelt inhibeeriv kliinilistes proovides sisalduvate saastavate bakterite suhtes.²⁻⁴ Klooramfenikooli lisamise eesmärk on suurendada bakterite inhibitsiooni ja võimaldada nende oportunistlike seente isolatsiooni saastatud proovidest, mis põhjustavad dermatofütoosiga sarnaseid kliinilisi nakkuseid, aga mis on tundlikud mõnes selektiivses seensöötmes sisalduva tsükloheksimiidi suhtes.^{3,4}

VI PROTSEDUURI PRINTSIIBID

Sabouraud' dekstroosiagar on peptooni sööde, millele on seente kasvu soodustamiseks lisatud dekstroosi. Peptoonid on lämmastiku kasvutegurite allikad. Dekstroos on mikroorganismide kasvu energiaallikas. Klooramfenikool on laia spektriga antibiootikum, millel on inhibeeriv mõju paljude gramnegatiivsete ja grampositiivsete bakterite suhtes, kui see koostisele lisatakse.⁵

VII REAGENDID

Sabouraud Dextrose Agar (Sabouraud' dekstroosiagar)

Ligikaudne valem* liitri puhastatud vee kohta

Pankrease ensüümidega töödeldud kaseiin	5,0 g
Maoensüümidega töödeldud loomne kude	5,0 g
Dekstroos	40,0 g
Agar	15,0 g

*Vajaduse korral kohandatud ja/või täiendatud toimingute kriteeriumide järgi.

Agar Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol ((Sabouraud' dekstroosiagar) klooramfenikooliga) sisaldab lisaks ülaltoodud koostisosadele ka 0,05 g klooramfenikooli.

Hoiatused ja ettevaatusabinõud. Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas.

Tihedalt korkitud katsutid tuleb avada ettevaatlikult, et vältida klaasi purunemisest tingitud vigastusi.

Kliinilistes analüüsides võib esineda patogeenseid mikroorganisme, sh hepatiidi viiruseid ja HI-viirust. Kõigi vere või muude kehavedelikega saastatud esemete käitlemisel tuleb järgida üldisi ettevaatusabinõusid („Standardised ettevaatusabinõud“⁶⁻⁹) ja asutuses kehtivaid eeskirju. Pärast kasutamist peavad ettevalmistatud tuubid, proovikonteinerid ja muud saastatud materjalid olema steriliseeritud autoklaavis enne kõrvaldamist.

Säilitusjuhised. Pärast kättesaamist säilitage katsuteid pimedas temperatuuril 2–8 °C. Vältige külmutamist ja ülekuumenemist. Avage vahetult enne kasutamist. Viige valguse ligipääs miinimumini. Katsutis tarnitavat söödet, mida on kuni kasutuseni säilitatud sildil toodud juhiste kohaselt, võib inokuleerida kuni aegumiskuupäevani ja inkubeerida soovitatavaks inkubatsiooniajaks, sh seensöötme puhul kuni 6 nädalat. Laske söötmele enne inokulatsiooni soojeneda toatemperatuurini.

Toote riknemine. Ärge kasutage katsuteid, kui neil on näha mikrobiaalse saastumise, värvimuutuse, kuivamise või teisi riknemise tunnuseid.

VIII PROOVIDE KOGUMINE JA TÖÖTLEMINE

Kultuuri jaoks kõlblikke proove võidakse käidelda erinevaid tehnikaid kasutades. Üksikasjaliku teabe saamiseks vaadake asjakohaseid lõike.^{10,11} Proovid peavad olema saadud enne antimikroobsete toimeainete manustamist. Tuleb hoolikalt jälgida, et proov saabuks laborisse viivitamatult.

IX PROTSEDUUR

Komplekti kuuluvad materjalid Sabouraud Dextrose Agar (Sabouraud' dekstroosiagar) või Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol (Sabouraud' dekstroosiagar klooramfenikooliga)

Nõutavad, kuid komplekti mittekuuluvad materjalid: Täiendavad kultuursöötmed, reagensid, kvaliteedikontrolli organismid ja laboriseadmed vajaduse alusel.

Katse protseduur. Järgige aseptikanõudeid.

Veeldage A-suurustes katsutites olev agar, keetes neid veevannis.* Jahutage temperatuurini 45–50 °C ja valage Petri tassidele. Laske vähemalt 30 minutit tahkuda.

Triibutage proov plaate ja pudeleid kasutades võimalikult kiiresti pärast proovi laboratooriumisse saabumist, kasutades isoleeritud kolooniate saamiseks steriilset inokulatsioonisilmust. Proovide töötlemise ja inokulatsiooni kohta vaadake teavet vastavate viidete alt.^{3,4}

Ettevalmistatud kaldplaadid katsutites on peamiselt mõeldud puhaste kultuuridega kasutamiseks nende säilitamiseks või muul eesmärgil.

Söödet võib inokuleerida kuni aegumiskuupäevani ja inkubeerida kuni 6 nädala jooksul.

Seente isoleerimiseks potentsiaalselt saastatud proovidest tuleb koos mitteselektiivse söötme ja inokuleerida selektiivne sööde. Inkubeerige mahutites suurema niiskusega ja temperatuuril 25–30 °C. Kõikides kultuurides tuleb seente kasvamist kontrollida vähemalt kord nädalas ja neid tuleb alles hoida vähemalt 4–6 nädalat, enne kui tulemused negatiivsena esitatakse.

***MÄRKUS.** Mikrolaineahju ei soovitata kasutada.

Kasutaja kvaliteedikontroll Vaadake jaotist „Kvaliteedikontrolli protseduurid“.

Iga söötmepartiid on testitud, kasutades asjakohaseid kvaliteedikontrolli organisme, ning testid vastavad toote spetsifikatsioonile ja CLSI standarditele (kui need on asjakohased). Nagu alati tuleb kvaliteedikontrolli tegemisel järgida kehtivaid kohalikke, osariigi, föderaalset või riiklikke määrusi, akrediteerimisnõudeid ja/või labori standardseid kvaliteedikontrolli protseduure.

Katsutis, pudelis oleva ja **Mycoflaski** söötme pH potentsiomeetriliseks määramiseks tuleb kasutada ühekordset elektroodi, mis on piisavalt väike katsutisse mahutamiseks. Elektroodi ots peab agari massis olema pooltahke või tahke söötme keskel.

X TULEMUSED

Pärast piisavat inkubatsiooni võivad isoleeritud kolooniad näha olla mahutite viirutatud aladel ja samasuunaline kasv võib näha olla tugevalt inokuleeritud aladel.

Puhaste seenekultuuride saamiseks võib olla vaja kasv kaldplaatidelt plaatidel söötmele viia.

Uurige plaatidel tüüpilise mikroskoopilise ja morfoloogiaga seente kolooniaid.^{4,12} Leidude kinnitamiseks tuleb teha biokeemilised ja seroloogilised protseduurid.

XI PROTSEDUURI PIIRANGUD

Kõrge süsivesikute sisalduse tõttu ei pruugi saada mõnda seent (nt *Blastomyces dermatitidis*) sellelt söötmele välja külvata.¹³

Tuvastamiseks peavad organismid olema puhtas kultuuris. Täielikuks tuvastamiseks tuleb teha morfoloogilised, biokeemilised ja/või seroloogilised katsed. Üksikasjalikku teavet ja soovitatud protseduure vaadake asjakohastest tekstidest.^{10,11}

XII RESULTATIIVSUSE KARAKTERISTIKUD

Sabouraud' dekstroosiagar

Enne väljasaatmist analüüsitakse kõiki Sabouraud' dekstroosiagari mahutite partiisid resultatiivsuse karakteristikute suhtes. Partii tüüpproove viirg-inokuleeritakse *Trichophyton mentagrophytes*'i (ATCC 9533) ja *Candida albicans*'i (ATCC 60193) värskete seenepuljongi kultuuridega, kasutades 0,01 ml kalibreeritud silmust. Kasvu ja kolooniate pigmentatsiooni kontrollitakse mahutites 2, 5 ja 7 päeva järel pärast inkubeerimist temperatuuril 25–30 °C. *C. albicans*'i kasv on vähene kuni intensiivne valgete kuni kreemikate kolooniatega. *T. mentagrophytes*'i kasv on vähene kuni intensiivne valgete kuni kreemikate ja pruunide kolooniatega.

Klooramfenikooliga Sabouraud' dekstroosiagar

Enne väljasaatmist analüüsitakse kõiki klooramfenikooliga Sabouraud' dekstroosiagari mahutite partiisid resultatiivsuse karakteristikute suhtes. Partii tüüpproove viirg-inokuleeritakse *Trichophyton mentagrophytes*'i (ATCC 9533), *Candida albicans*'i (ATCC 60193), *Aspergillus brasiliensis*'i (ATCC 16404) ja *Escherichia coli* (ATCC 25922) **Trypticase**'i sojapuljongi kultuuridega, kasutades 0,01 ml kalibreeritud silmust. Kasvu ja kolooniate pigmentatsiooni kontrollitakse mahutites 2, 5 ja 7 päeva järel pärast inkubeerimist temperatuuril 25–30 °C. *C. albicans*'i kasv on vähene kuni intensiivne valgete kuni kreemikate kolooniatega. *T. mentagrophytes*'i kasv on vähene kuni intensiivne valgete kolooniatega. *A. brasiliensis*'e kasv on vähene kuni intensiivne pruunide kuni mustade kolooniatega. *E. coli* kasv on kesine või täiesti inhubeeritud.

XIII KÄTTESAADAVUS

Kat. nr	Kirjeldus
221012	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants (Sabouraud' dekstroosiagari kaldplaadid), pakendis 10 A-suuruses katsutit
221013	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants (Sabouraud' dekstroosiagari kaldplaadid), mahutis 100 A-suuruses katsutit
296182	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Deepes (Sabouraud' dekstroosiagari söötmed) (Pour Tubes), 20 mL, mahutis 100 A-suuruses katsutit
221136	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar (Sabouraud' dekstroosiagar), Mycoflask -i pudelid, pakendis 10
221825	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol Slants (Sabouraud' dekstroosiagar klooramfenikooliga kaldplaatidega), mahutis 100 A-suuruses katsutit
221314	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol (Sabouraud' dekstroosiagar klooramfenikooliga kaldplaatidega), Mycoflask -i pudelit, pakendis 10

XIV VIITED

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.

Tehniline teenistus ja toetamine BD Diagnostics: Võtke ühendust BD kohaliku esindajaga või 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