

POSTUPCI KONTROLE KVALITETE

I UVOD

Medij se koristi za uzgoj dermatofita i ostalih patogenih i nepatogenih gljivica iz kliničkih i nekliničkih uzoraka.

II POSTUPAK ISPITIVANJA UČINKOVITOSTI

- Inokulirajte reprezentativne uzorke s dolje navedenim kulturama.
 - Za izravni inokulat sojevima *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 i *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 pomoću ušice od 0,01 mL kulture razvijene u glukoznom agaru **BBL Sabouraud Dextrose Agar**.
 - Za inokulat sojevima *Candida albicans* ATCC 10231 i *Escherichia coli* ATCC 25922 pomoću 0,01 mL razrijeđene fiziološke otopine za 10^3 do 10^4 CFU-a.
- Inkubirajte epruvete s otpuštenim poklopcima pri temperaturi od 25 do 30 °C do 7 dana u aerobnoj atmosferi.
- Očekivani rezultati

Organizmi	ATCC	Izolacija
* <i>Candida albicans</i>	10231	Prosječan do velik rast
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Prosječan do velik rast
* <i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Inhibicija (djelomična do potpuna)
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibicija (djelomična do potpuna)

*Preporučeni soj organizama za korisničku kontrolu kvalitete.

III DODATNA KONTROLA KVALITETE

- Provjerite epruvete prema objašnjenju iz poglavlja „Pogoršanje kvalitete proizvoda“.
- Vizualno pregledajte reprezentativne epruvete kako biste utvrdili da nemaju fizičkih oštećenja koja mogu utjecati na upotrebu.
- Odredite pH potencijometrijski na sobnoj temperaturi kako biste provjerili pridržava li se propisanih vrijednosti $5,6 \pm 0,2$.
- Inkubirajte neinokulirane reprezentativne uzorke na 20 – 25 °C i 30 – 35 °C te nakon 7 dana potražite znakove kontaminacije mikrobima.

INFORMACIJE O PROIZVODU

IV NAMJENA

Medij se koristi u kvalitativnim postupcima za uzgoj dermatofita i ostalih patogenih i nepatogenih gljivica iz kliničkih i nekliničkih uzoraka.

V SAŽETAK I OBJAŠNJENJE

Glukozni agar Sabouraud medij je za općenitu namjenu koji je Sabouraud osmislio za uzgoj dermatofita.¹ Niska pH vrijednost od otprilike 5,6 pogodna je za rast gljivica, osobito dermatofita i inhibitornih ili kontaminacijskih bakterija u kliničkim uzorcima.²

No kiseli pH medija može inhibirati neke vrste gljivica.² Dodavanje protumikrobnih agensa poboljšava izolaciju patogenih gljivica u uzorcima koji su kontaminirani bakterijama i saprofitnim gljivicama.³

VI NAČELA POSTUPKA

Glukozni agar Sabouraud peptonski je medij s dodatkom glukoze za poticanje razvoja gljivica. Antibiotici i protugljivični agensi usporavaju razvoj bakterija i saprofitnih gljivica koje ometaju izolaciju dermatofita i gljivica koje uzrokuju sistavne mikoze.³ Kloramfenikol je antibiotik širokog spektra koji inhibira veliki broj gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija. Cikloheksimid je protugljivični agens koji djeluje prvenstveno protiv saprofitnih gljivica te ne inhibira kvasce niti dermatofite.

VII REAGENCI

Glukozni agar CC Sabouraud

Približna formula* po litri pročišćene vode

Pankreatična digestija kazeina	5,0 g	Agar	15,0 g
Peptična digestija životinjskog tkiva	5,0 g	Kloramfenikol	0,05 g
Dekstroza	40,0 g	Cikloheksamid	0,5 g

*Prilagođeno i/ili dodano prema potrebi kako bi se udovoljilo kriterijima učinkovitosti.

Upozorenja i mjere opreza: Za *in vitro* dijagnostiku.

Epruvete sa zategnutim čepovima treba oprezno otvarati kako ne bi došlo do ozljeda pri pucanju stakla.

U kliničkim uzorcima mogu biti prisutni patogeni mikroorganizmi, uključujući viruse hepatitisa i virus humane imunodeficijencije. Pri rukovanju svim predmetima kontaminiranim krvlju i drugim tjelesnim tekućinama treba se pridržavati „Standardnih mjera opreza“⁴⁻⁷ i institucionalnih smjernica. Pripremljene epruvete, spremnike uzoraka i druge kontaminirane materijale sterilizirajte u autoklavu prije odlaganja u otpad.

Upute za čuvanje: Epruvete po primitku čuvajte na tamnom mjestu na temperaturi od 2 – 8°C. Pazite da ne dođe do smrzavanja i pregrijavanja. Otvorite neposredno prije upotrebe. Smanjite izlaganje svjetlosti na najmanju moguću mjeru. Mediji pohranjeni u epruvetama prema uputama mogu se inokulirati do prije same upotrebe sve do isteka roka valjanosti, a inkubirati do 6 tjedana. Prije inokulacije pričekajte da se podloga zagrije do sobne temperature.

Pogoršanje kvalitete proizvoda: Ne koristite medij ako su vidljivi znakovi kontaminacije mikroorganizmima, promjena boje ili ostali znakovi pogoršanja kvalitete.

VIII PRIKUPLJANJE UZORAKA I RUKOVANJE

Pojedinosti o postupcima prikupljanja uzoraka i rukovanju potražite u odgovarajućim tekstovima.⁸⁻¹¹

IX POSTUPAK

Priloženi materijal: Glukozni agar CC Sabouraud

Potreban materijal koji se nabavlja zasebno: dodatne hranjive podloge, reagensi, organizmi za kontrolu kvalitete i laboratorijska oprema prema potrebi.

Postupak ispitivanja: Primjenjujte aseptične tehnike.

Medij inokulirajte čim uzorak dođe u laboratorij. Razmažite uzorak po mediju pomoću sterilne ušice za inokulaciju. Proučite odgovarajuća poglavlja s informacijama o pripremi i inokulaciji uzoraka poput tkiva, strugotina kože, kose, komadića nokta itd.^{3,8-11}

Za izolaciju gljivica koje uzrokuju kožnu mikozu, osim selektivnog medija, potrebno je inokulirati i neselektivni medij. Inkubirajte epruvete na 25°C do 30°C.

Korisnička kontrola kvalitete: Pogledajte poglavlje „Postupci kontrole kvalitete”.

Zahtjevi kontrole kvalitete moraju biti ispunjeni u skladu s važećim lokalnim, državnim i/ili saveznim propisima ili uvjetima akreditiranja i postupcima standardne kontrole kvalitete vašeg laboratorija. Preporučuje se da korisnik konzultira relevantne smjernice CLSI-a i propise CLIA za odgovarajuće postupke kontrole kvalitete.

X REZULTATI

Najmanje jedanput tjedno provjerite razvijaju li se gljivice u epruvetama. Kulture se čuvaju 4 do 6 tjedana dok se ne utvrdi da su negativne.

XI OGRANIČENJA POSTUPKA

Jedan je medij rijetko dovoljan za otkrivanje svih organizama od moguće važnosti u uzorku. Agensi u selektivnim medijima mogu inhibirati neke sojeve željene vrste ili omogućiti razvoj vrste koji bi trebali inhibirati, osobito ako je vrsta prisutna u velikom broju u uzorku. Uzorke uzgojene u selektivnim medijima treba stoga uzgajati i u neselektivnim medijima kako biste došli do dodatnih informacija te omogućili izolaciju potencijalnih patogena.

Za identifikaciju mikroorganizma kultura mora biti čista. Za konačnu identifikaciju potrebno je provesti morfološka, biokemijska i/ili serološka ispitivanja. U odgovarajućim poglavljima potražite dodatne informacije i preporučene postupke.^{3,8,9,11-13}

XII RADNA SVOJSTVA

Prije izdavanja za sva pakiranja Glukoznog agara CC Sabouraud ispitana su očekivana radna svojstva. Reprezentativni uzorci pakiranja inokuliraju se izravno sa sojevima *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 i *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 koji se razvijaju u glukoznom agaru **BBL** Sabouraud Dextrose Agar. Uzorci se ispituju i u običnoj fiziološkoj otopini soja *Escherichia coli* ATCC 25922 i *Candida albicans* ATCC 10231 razrijeđene za 10³ do 10⁴ CFU-a. Epruvete se inkubiraju s otpuštenim poklopcima na 25 – 30°C najviše 7 dana u aerobnoj atmosferi. Prosječan do jak rast primijećen je sa sojevima *T. mentagrophytes* i *C. albicans*. Sojevi *A. brasiliensis* i *E. coli* djelomično su do potpuno inhibirani.

XIII DOSTUPNOST

Kat. br. **Opis**

297649 **BD BBL** Sabouraud Dextrose CC Agar, pakiranje od 10 kosih agara, epruveta veličine A

XIV REFERENCE

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.

Tehnički servis i podrška na BD Diagnostics: obratite se lokalnom predstavniku tvrtke BD ili posjetite 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.