



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



PROCEDURER FÖR KVALITETSKONTROLL (Valfritt)

I INTRODUKTION

Sabouraud Dextrose Agar (Sabouraud dextrosagar) är ett oselektivt medium för odling och underhåll av patogena och icke-patogena svampar, i synnerhet dermatofyter. Selektivitet erhålls genom tillsats av kloramfenikol.

II PRESTANDATESTFÖRFARANDE

- Omvandla Sabouraud Dextrose Agar Deeps till vätska i rör i storlek A genom kokning i ett vattenbad.* Låt svalna till 45 – 50 °C och håll i Petriskålar och låt stelna i minst 30 min.
***OBS!** Användning av mikrovågsugn rekommenderas ej.
- Inokulera representativa prover med de odlingar som anges nedan.
 - Stryk agarytan med en 0,01 mL kalibrerad ögla med svampbuljongodlingar (upp till 7 dagar gamla). För *Escherichia coli*, ympa en full ögla med en 18- till 24-h **Trypticase** sojabuljongodling spädd till 10⁻¹.
 - Inkubera provbehållarna vid 25 – 30 °C i aerob miljö. Lock ska lossas på rör och flaskor innehållande medier.
 - Inkludera Sabouraud dextrosagarskivor som oselektiva kontroller när Sabouraud dextrosagar med kloramfenikol testas.
OBS! Arbete med *A. brasiliensis* (ATCC 16404) ska utföras i biologiskt säkerhetsskåp.
- Kontrollera behållare i upp till 7 dagar för växt och pigmentering och för selektivitet i mediet som innehåller kloramfenikol.
- Förväntade resultat

För Sabouraud dextrosagar

CLSI-organismer	ATCC	Utbyte
* <i>Candida albicans</i>	60193	Växt vid 72 h
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Växt vid 72 h

För Sabouraud dextrosagar med kloramfenikol

Organismer	ATCC	Utbyte
* <i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Växt
* <i>Candida albicans</i>	10231	Växt
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Växt
* <i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibering (partiell till fullständig)

*Rekommenderad organismstam för kvalitetskontroll utförd av användaren.

III YTTERLIGARE KVALITETSKONTROLL

- Undersök rören eller flaskorna enligt beskrivningen i avsnittet "Produktförsäkring".
- Undersök representativa rör eller flaskor visuellt för att säkerställa att inga existerande fysiska defekter kommer att inverka på användningen.
- Fastställ pH potentiometriskt vid rumstemperatur så att värdet på 5,6 ± 0,2 enligt specifikationen följs.
- Inkubera ej inokulerade representativa rör eller flaskor vid 20 till 25 °C och 30 till 35 °C och undersök dem efter 7 dagar med avseende på mikrobiell kontamination.

PRODUKTINFORMATION

IV AVSEDD ANVÄNDNING

Sabouraud dextrosagar används i kvalitativa förfaranden för odling av dermatofyter. Mediet kan göras mer selektivt för svampar genom tillsats av kloramfenikol.

V SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING

Sabouraud dextrosagar är ett universalmedium ursprungligen framställt av Sabouraud för odling av dermatofyter.¹ Det låga pH-värdet på ungefär 5,6 gynnar svampväxt, i synnerhet dermatofyter och verkar svagt hämmande på kontaminerande bakterier i kliniska prover.²⁻⁴ Tillsats av kloramfenikol är avsett att öka hämning av bakterier och möjliggöra isolering i kliniska prover av opportunistiska svampar som orsakar kliniska infektioner liknande dermatofytos, men som är känsliga för cyklohexinid som finns i vissa selektiva svampmedier.^{3,4}

VI PRINCIPER FÖR METODEN

Sabouraud dextrosagar är ett peptonmedium med tillsats av dextros för att gynna svampväxt. Peptonerna utgör en källa till kvävehaltiga tillväxtfaktorer. Dextros tillhandahåller en energikälla för tillväxten av mikroorganismer. Kloramfenikol är ett bredspektrumantibiotikum som hämmar ett stort antal gramnegativa och grampositiva bakterier när det ingår i mediets sammansättning.⁵

VII REAGENSER

Sabouraud Dextrose Agar

Ungefärlig sammansättning* per liter renat vatten

Hydrolyserat kasein framställt med pankreasenzym	5,0 g
Peptiskt spjälkat djurvävnad	5,0 g
Dextros	40,0 g
Agar	15,0 g

*Justerad och/eller kompletterad efter behov för att uppfylla prestandakriterierna.

Sabouraud dextrosagar med kloramfenikol innehåller 0,05 g kloramfenikol förutom de ovan angivna ingredienserna.

Varningar och försiktighetsbeaktanden: Avsedd för *in vitro*-diagnostik.

Rör med lock som sitter åt hårt ska öppnas försiktigt så att inte skador inträffar på grund av att glaset går sönder.

Patogena mikroorganismer, inklusive hepatitvirus och humant immunbristvirus, kan förekomma i kliniska prover. "Allmänna försiktighetsbeaktanden"⁶⁻⁹ och institutionens riktlinjer skall följas vid hantering av alla föremål som kontaminerats med blod och andra kroppsvätskor. Efter användning skall alla preparerade rör, provbehållare och övrigt kontaminerat material steriliseras i autoklav innan de kasseras.

Förvaringsanvisningar: Förvara rören mörkt vid 2 till 8 °C efter mottagandet. Undvik frysning och överhettning. Får ej öppnas förrän omedelbart före användning. Aktas för ljus. Medier i rör som förvarats enligt anvisningarna till precis före användning kan inokuleras fram till utgångsdatum och inkuberas under de rekommenderade inkubationstiderna inklusive upp till 6 veckor för mykologimedier. Låt mediet värmas till rumstemperatur före inokulation.

Produktnedbrytning: Rören får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning eller annan försämring.

VIII PROVTAGNING OCH -FÖRBEREDELSE

Prover som är lämpliga för odling kan hanteras med olika metoder. För detaljerad information hänvisas till lämplig litteratur.^{10,11} Prover skall tas före administrering av antimikroba medel. Åtgärder måste vidtas för snabb leverans till laboratoriet.

IX FÖRFARANDE

Tillhandahållet material: Sabouraud Dextrose Agar eller Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

Material som krävs men ej medföljer: Extra odlingsmedier, reagenser, organismer för kvalitetskontroll och laboratorieutrustning efter behov.

Testförfarande: Använd aseptisk teknik.

Omvandla agarn till vätska i rör av storlek A genom kokning i vattenbad*, låt svalna till 45 – 50 °C och håll i Petriskålar. Låt stelna i minst 30 minuter.

Vid användning av plattor och flaskor, stryk ut provet med en steril ögla för ympning så snart som möjligt efter provets ankomst till laboratoriet för att säkra isolerade kolonier. Se tillämpliga referenser för information om behandling och inokulering av prover.^{3,4}

Beredda skivor i rör är främst avsedda för användning med renkulturer för underhåll och andra ändamål.

Medier kan inokuleras fram till utgångsdatum och inkuberas i upp till 6 veckor.

För isolering av svamp från potentiellt kontaminerade prover skall ett selektivt medium inokuleras samtidigt som det oselektiva mediet. Inkubera behållarna vid 25 – 30 °C med ökad luftfuktighet. Alla odlingar skall undersökas minst en gång i veckan med avseende på svampväxt och skall stå i 4 – 6 veckor innan de rapporteras som negativa.

***OBS!** Användning av mikrovågsugn rekommenderas ej.

Kvalitetskontroll utförd av användaren: Se "Procedurer för kvalitetskontroll".

Varje sats av media har testats med lämpliga kvalitetskontrollorganismer, och denna testning uppfyller produktspecifikationerna och CLSI-standarderna, där detta är relevant. Som alltid måste kvalitetskontroll utföras i enlighet med gällande lokala, statliga, regionala eller nationella bestämmelser eller ackrediteringskrav och/eller laboratoriets fastställda rutiner för kvalitetskontroll.

En enda elektrod som är liten nog för att passa i rören ska användas för att bestämma pH potentiometriskt i medier i rör, på flaska och i medier av märket **Mycoflask**. Elektrodspetsen skall placeras i mitten av agarmaterialet i halvfasta och fasta medier.

X RESULTAT

Efter tillräcklig inkubering skall det finnas isolerade kolonier på plattornas strykta områden och sammanhängande växt i områden med kraftig ympning.

Överföring av växt från skivor till plattmedier kan krävas för att få fram rena svampkulturer.

Undersök behållarna med avseende på svampkolonier som visar karakteristisk mikroskopisk morfologi och kolonimorfologi.^{4,12} Biokemiska analyser och serologiska metoder ska utföras för att bekräfta fynden.

XI METODENS BEGRÄNSNINGAR

Vissa svampar (t.ex. *Blastomyces dermatitidis*) växer eventuellt inte på detta medium på grund av det höga kolhydratinnehållet.¹³

För identifiering måste organismer vara i renkultur. Morfologiska, biokemiska och/eller serologiska tester bör utföras för fullständig identifiering. Se lämplig litteratur för noggrann information och rekommenderade förfaranden.^{10,11}

XII KLINISKA PRESTANDA

Sabouraud Dextrose Agar

Alla partier med behållare innehållande Sabouraud dextrosagar har prestandatestas innan de släpps på marknaden. En 0,01 mL kalibrerad ögla användes och representativa prover i partiet inokulerades med utstryk av färsk svampbuljongodlingar av *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533) och *Candida albicans* (ATCC 60193). Behållarna avläses med avseende på växt och pigmentering efter 2, 5 och 7 dagars inkubering vid 25 – 30 °C. *C. albicans* uppvisar måttlig till kraftig växt med vita till gräddfärgade kolonier. *T. mentagrophytes* uppvisar måttlig till kraftig växt med vita till gräddfärgade till ljusbruna kolonier.

Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

Alla partier med behållare innehållande Sabouraud dextrosagar med kloramfenikol har prestandatestas innan de släpps på marknaden. En 0,01 mL kalibrerad ögla användes och representativa prover i partiet inokulerades med utstryk av färsk svampbuljongodlingar av *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533) och *Candida albicans* (ATCC 60193), *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) och en **Trypticase** sojabuljong av *Escherichia coli* (ATCC 25922). Behållarna avläses med avseende på växt och pigmentering efter 2, 5 och 7 dagars inkubering vid 25 – 30 °C. *C. albicans* uppvisar måttlig till kraftig växt med vita till gräddfärgade kolonier. *T. mentagrophytes* uppvisar måttlig till kraftig växt med vita till gräddfärgade till ljusbruna kolonier. *A. brasiliensis* uppvisar måttlig till kraftig växt med bruna till svarta kolonier. Växt av *E. coli* är antingen svag eller fullständigt hämmad.

XIII TILLGÄNGLIGHET

Kat. nr.	Beskrivning
221012	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants, förpackning med 10 rör i storlek A
221013	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants, kartong med 100 rör i storlek A
296182	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Deepes (fyllningsrör), 20 mL, kartong med 100 rör i storlek A
221136	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar, Mycoflask flaskor, förpackning med 10 st.
221825	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol Slants, kartong med 100 rör i storlek A
221314	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol, Mycoflask flaskor, förpackning med 10 st.

XIV REFERENSER

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

BD Diagnostics teknisk service: Kontakta närmaste BD-representant eller besök 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