



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



POSTUPCI KONTROLE KVALITETE (Neobavezno)

I UVOD

Dekstrozni Agar Sabouraud je neselektivna podloga za uzgoj i održavanje patogenih i nepatogenih gljivica, posebno dermatofita. Selektivnost se postiže dodavanjem kloramfenikola.

II POSTUPAK ISPITIVANJA UČINKOVITOSTI

1. Sabouraud Dextrose Agar Deeps u epruvetama A kuha se u vodenoj kupelji i tako postaje tekuć.* Hladi se na 45 – 50°C i ulijeva u Petrijeve zdjelice te nakon najmanje 30 minuta prelazi u čvrsto stanje.

***NAPOMENA:** Upotreba mikrovalne pećnice ne preporučuje se.

2. Inokulirajte reprezentativne uzorke s dolje navedenim kulturama.

- Na površinu agara, pomoću kalibrirane ušice od 0,01 mL, razmažite kulture gljivičnog bujona (starosti do 7 dana). Za vrste *Escherichia coli*, ušicom inokulirajte sojin bujon **Trypticase** starosti 18 do 24 h koncentracije 10^{-1} .
- Inkubirajte ispitne spremnike pri temperaturi 25 – 30°C u aerobnoj atmosferi. Čepovi trebaju biti odvijeni za podloge iz epruvete ili boce.
- Uključite kose dekstrozne agare Sabouraud kao neselektivnu kontrolu ako se ispituje podloga dekstroznog agara Sabouraud s kloramfenikolom.

NAPOMENA: S vrstama *A. brasiliensis* (ATCC 16404) radite u biološki osiguranom kabinetu.

3. Pregledajte rast i pigmentaciju u spremnicima nakon 7 dana te selektivnost za podloge koje sadrže kloramfenikol.

4. Očekivani rezultati

Za Dekstrozni Agar Sabouraud

CLSI organizmi	ATCC	Izolacija
* <i>Candida albicans</i>	60193	Rast nakon 72 h
* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Rast nakon 72 h

Za dekstrozni agar Sabouraud s kloramfenikolom

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

*Preporučeni soj organizama za korisničku kontrolu kvalitete.

III DODATNA KONTROLA KVALITETE

- Provjerite epruvete ili boce prema objašnjenju iz poglavlja „Pogoršanje kvalitete proizvoda“.
- Vizualno pregledajte reprezentativne epruvete ili boce da biste utvrdili kako nemaju fizičkih oštećenja koja će 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 epruvete ili boce na 20 – 25°C i 30 – 35°C pa pregledajte nakon 7 dana jesu li onečišćene mikrobima.

INFORMACIJE O PROIZVODU

IV NAMJENA

Dekstrozni agar Sabouraud koristi se za uzgoj dermatofita kvalitativnim postupcima. Podloga ima veću selektivnost za gljivice ako se doda kloramfenikol.

V SAŽETAK I OBJAŠNJENJE

Dekstrozni agar Sabouraud podloga je za opće namjene, a stvorio ga je Sabouraud za uzgoj dermatofita.¹ Niski pH od približno 5,6 pogodan je za rast gljivica, posebno dermatofita i neznatno inhibitorni za kontaminirajuće bakterije u kliničkim uzorcima.²⁻⁴ Dodavanjem kloramfenikola dobiva se modifikacija za povećanje bakterijske inhibicije i omogućavanje izolacije iz kontaminiranih uzoraka oportunističkim gljivicama koje uzrokuju kliničke infekcije slične dermatofitozi, ali su osjetljive na cikloheksimid koji je sadržan u nekim selektivnim gljivičnim podlogama.^{3,4}

VI NAČELA POSTUPKA

Glukozni agar Sabouraud peptoni su medij s dodatkom glukoze za poticanje razvoja gljivica. Peptoni su izvori dušičnih faktora rasta. Dekstroza predstavlja izvor energije za rast mikroorganizama. Kloramfenikol je antibiotik širokog spektra koji služi kao inhibitor za veliku količinu gram-negativnih i gram-pozitivnih bakterija ako se doda u formulaciju.⁵

VII REAGENSI

Sabouraud Dextrose Agar

Približna formula* po litri pročišćene vode

Pankreatična digestija kazeina	5,0 g
Peptična digestija životinjskog tkiva	5,0 g
Dekstroza.....	40,0 g
Agar	15,0 g

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

Dekstrozni agar Sabouraud s kloramfenikolom sadrži 0,05 g kloramfenikola kao i prethodno navedene sastojke.

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“⁶⁻⁹ i institucionalnih smjernica. Nakon upotrebe, pripremljene epruvete, spremnici za uzorke i ostali kontaminirani materijali moraju se sterilizirati u autoklavu prije odlaganja.

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. Podloge u epruvetama treba čuvati pohranjene kao što je navedeno u uputama prije same upotrebe mogu se inokulirati sve do isteka roka valjanosti i inkubirati tijekom preporučenih rokova inkubacije, uključujući do 6 tjedana za mikološku podlogu. Prije inokulacije pričekajte da se hranjiva podloga zagrije do sobne temperature.

Pogoršanje kvalitete proizvoda: Ne upotrebljavajte epruvete ako pokazuju vidljive znakove kontaminacije mikrobima, promjene boje, sušenja ili ostale znakove pogoršanja kvalitete.

VIII PRIKUPLJANJE UZORAKA I RUKOVANJE

Uzorci pogodni za hranjivu podlogu mogu se obraditi raznim tehnikama. Detaljne informacije potražite u odgovarajućim tekstovima.^{10,11} Uzorke treba uzeti prije obrade protumikrobnih agensa. Potrebno je izraditi propise za brzu dostavu u laboratorij.

IX POSTUPAK

Priloženi materijal: Sabouraud Dextrose Agar ili Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

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

Postupak ispitivanja: Primjenjujte aseptične tehnike.

Agar u epruvetama A kuha se u vodenoj kupelji i tako postaje tekuć*, hladi se na 45 – 50°C i ulijeva u Petrijeve zdjelice. Pričekajte barem 30 minuta da podloga postane čvrsta.

Kod pločica i boca razmažite uzorak odmah po primitku u laboratorij pomoću sterilne ušice za inokulaciju kako biste dobili izolirane kolonije. Informacije o obradi i inokulaciji uzoraka potražite u odgovarajućim referentnim materijalima.^{3,4}

Pripremljene kose agare iz epruvete primarno treba koristiti s čistim kulturama za održavanje ili u druge svrhe.

Podloge se mogu inokulirati do datuma isteka valjanosti te inkubirati u roku do 6 tjedana.

Za izolaciju gljivica iz potencijalno kontaminiranih uzoraka, selektivnu podlogu potrebno je inokulirati uz neselektivnu. Spremnike inkubirajte na 25 – 30°C s povećanom vlažnošću. Sve kulture treba pregledati najmanje jednom tjedno i provjeriti rast gljivica, a postupak treba provoditi 4 – 6 tjedana prije registracije negativnih rezultata.

***NAPOMENA:** Upotreba mikrovalne pećnice ne preporučuje se.

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

Svaka serija podloga ispitana je pomoću odgovarajućih organizama za kontrolu kvalitete, a ta su ispitivanja, kada je to bitno, usklađena sa specifikacijama i standardima instituta CLSI. Kao i uvijek, ispitivanja za kontrolu kvalitete moraju se provoditi u skladu s važećim lokalnim, državnim, saveznim ili nacionalnim propisima, uvjetima akreditiranja i/ili standardnim postupcima kontrole kvalitete vašeg laboratorija.

Za određivanje pH vrijednosti podloge u epruveti potencijetrom treba koristiti jednu elektrodu dovoljno male veličine da stane u epruvetu, bosa i podloge vrste **Mycoflask**. Vrh elektrode mora se postaviti u središnji dio mase agara u polučvrstoj ili čvrstoj podlozi.

X REZULTATI

Nakon dovoljne inkubacije, u spremnicima mogu biti vidljive izolirane kolonije na područjima razmaza i rast koji se slijeva u jednu točku na područjima jake inokulacije.

Da bi se postigla čista kultura gljivica možda će biti potrebno prenijeti rast s kosih na pločaste podloge.

U spremnicima provjerite pokazuju li gljivične kolonije uobičajenu mikroskopsku i kolonijsku morfologiju.^{4,12} Treba provesti biokemijska ispitivanja i serološke postupke radi potvrđivanja rezultata.

XI OGRANIČENJA POSTUPKA

Neke gljivice (npr., *Blastomyces dermatitidis*) možda se neće moći izolirati na ovakvoj podlozi zbog velikog sadržaja ugljikohidrata.¹³

Za identifikaciju, organizmi moraju biti u čistoj kulturi. Za konačnu identifikaciju potrebno je provesti morfološka, biokemijska i/ili serološka ispitivanja. U odgovarajućim poglavljima potražite dodatne informacije i preporučene postupke.^{10, 11}

XII RADNA SVOJSTVA

Dekstrozni agar Sabouraud

Prije izdavanja ispitana su očekivana radna svojstva svih pakiranja dekstroznog agara Sabouraud. Pomoću kalibrirane ušice od 0,01 mL, reprezentativni uzorci iz serije razmazivanjem su inokulirani svježim kulturama gljivičnog bujona *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533) i *Candida albicans* (ATCC 60193). Rast i pigmentacija kolonije u spremnicima očitavaju se nakon 2, 5 i 7 dana inkubacije na 25 – 30°C. *C. albicans* pokazuje prosječan do jak rast bijelih do bež kolonija. *T. mentagrophytes* pokazuje prosječan do jak rast s bijelim do bež i svijetlobež kolonijama.

Dekstrozni agar BBL Sabouraud s kloramfenikolom

Prije izdavanja kloramfenikolom su ispitana očekivana radna svojstva svih pakiranja dekstroznog agara Sabouraud. Pomoću kalibrirane ušice od 0,01 mL razmazivanjem su inokulirani reprezentativni uzorci serije sa svježim kulturama gljivičnog bujona *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), *Candida albicans* (ATCC 60193), *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) i kulturama sojinog bujona **Trypticase** *Escherichia coli* (ATCC 25922). Rast i pigmentacija kolonije u spremnicima očitavaju se nakon 2, 5 i 7 dana inkubacije na 25 – 30°C. *C. albicans* pokazuje prosječan do jak rast bijelih do bež kolonija. *T. mentagrophytes* pokazuje prosječan do jak rast s bijelim kolonijama. *A. brasiliensis* pokazuje prosječan do jak rast sa smeđim do crnim kolonijama. Rast *E. coli* slab je ili potpuno inhibiran.

XIII DOSTUPNOST

Kat. br.	Opis
221012	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants (kosi), pakiranje od 10 epruveta veličine A
221013	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants (kosi), pakiranje od 100 epruveta veličine A
296182	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Deepes (epruvete za ulijevanje), 20 mL, pakiranje od 100 epruveta veličine A
221136	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar, boce Mycoflask , pakiranje od 10
221825	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol (kosi), pakiranje od 100 epruveta veličine A
221314	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol, boce Mycoflask , pakiranje od 10

XIV REFERENCE

- Sabouraud, R. 1892. Contribution a l'etude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bacteriologique sur la pluralite des trichophytos de l'homme. Ann. Dermatol. Syphil. 3:1061-1087.
- 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.
- 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.
- 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.
- Lorian, V. (ed.) 1991. Antibiotics in laboratory medicine, 3rd ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
- Gamer, 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
- Larone, D.H. 1995. Medically important fungi: a guide to identification, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- 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.

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 all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD