

SABOURAUD DEXTROSE AGAR + CAF + GENTAMICIN

Paruošti naudoti plokštelės



Aspergillus brasiliensis
ant Sabouraud Dextrose Agar + CAF + Gentamicin

1 - NAUDOJIMO PASKIRTIS

In vitro diagnostikos prietaisas. Selektivi terpė mielių ir pelėsių izoliavimui ir auginimui klinikiniuose mėginiuose.

2 - SUDĖTIS - TIPINĖ FORMULĖ *

Kazeino pankreatinis virškinimas	5,00 g
Mėsos virškinimo fermentai	5,00
Gliukozė	40,00
Agaras	15,00
Chloramfenikolis	0,05
Gentamicinas	0,10
Išgrynintas vanduo	1000

*formulė gali būti koreguojama ir (arba) papildoma, kad atitiktų reikiamus veikimo kriterijus.

3 - METODO PRINCIPAS IR PROCEDŪROS PAAIŠKINIMAS

Iki 1890 m. pabaigos Raymond Jacques Sabouraud susistemino ir apibendrino pavienius stebėjimus apie patogeninių grybų vaidmenį dermatofitinėse infekcijose ir pasiūlė terpę jų izoliavimui ir klasifikavimui.^{1,2}

Weidman ir Spring³ atliko daugybę eksperimentų, siekdami patobulinti Sabouraud formulę, naudodami įvairius peptonus ir angliavandenius, tačiau tinkamą terpę pasirinko Hodges⁴. Galutinėje formulėje ši terpė sudarė 1 % peptoną, 4 % dekstrozę ir 1,8 % agarą, o galutinis pH buvo 5,0. Ši formulė buvo pavadinta Sabouraud terpe ir yra pagrindinė įprasta terpė, naudojama grybams augini klinikinėse laboratorijose.

Bazinės terpės Sabouraud dekstrozės agarą komponentai atitinka dabartinės Europos farmakopėjos rekomendacijas⁵. Chloramfenikolio ir gentamicino pridėjimas yra modifikacija, skirta padidinti bakterijų slopinimą ir pagerinti oportunistinių grybų izoliavimą iš užterštų mėginių^(6,7).

Sabouraud Dextrose Agar + CAF+ Gentamicin yra selektyvi terpė, skirta izoliuoti mieles ir pelėsius, cikloheksimidui jautrius grybus, pvz., *Cryptococcus neoformans* ir *Allescheria boydii* bei *Candida* spp. klinikiniuose mėginiuose.

Kazeino virškinimas kasoje ir gyvūninės kilmės audinių virškinimas skrandyje suteikia azoto, anglies ir mikroelementų, reikalingų mikrobu augimui. Žemas pH yra palankus grybų augimui ir šiek tiek slopina bakterijų užkrėtimą; selektyvumas padidėja dėl chloramfenikolio, plataus spektro antibiotiko, kuris slopina daugelio gramneigiamų ir gramteigiamų bakterijų augimą, ir gentamicino, aminoglikozidinio antibiotiko, kuris slopina gramneigiamų bakterijų augimą, buvimo. Didelės koncentracijos gliukozė yra anglies ir energijos šaltinis.

4 - FIZINĖS SAVYBĖS

Paruoštų plokščių išvaizda geltonos, skaidrios
Galutinis pH esant 20–25 °C 5,6 ± 0,2

5 - PATEIKTOS MEDŽIAGOS

Produktas	Tipas	REF	Pakuotė
Sabouraud Dextrose Agar +CAF +Gentamicin	Paruošti naudoti plokštelės	542009	2 x 10 plokštelių ø 90 mm pirminė pakuotė: 2 celofano maišeliai antrinė pakuotė: kartoninė dėžutė

6 - REIKALINGOS, BET NEPAITEKTOS MEDŽIAGOS

Sterilūs kilpos ir tamponai, inkubatorius ir laboratorinė įranga pagal poreikį, pagalbinės auginimo terpės ir reagentai kolonijų identifikavimui.

7 - MĖGINIAI

Sabouraud Dextrose Agar + CAF + Gentamicin galima tiesiogiai inokuliuoti daugeliu klinikinių mėginių, paimtų iš įvairių fiziologiškai nesterilių žmogaus vietų. Mėginių tipai, susiję su konkrečiomis infekcijomis, nurodyti literatūroje.⁷ Terpė netinka tiesioginiam kraujo mėginių ar kitų mėginių iš paprastai sterilių vietų inokuliuojimui. Terpė turi būti atidžiai parenkama pagal mėginio tipą ir įtariamus grybelinius agentus.⁷ Jei įmanoma, mėginiai turi būti surenkami prieš antimikrobinį gydymą. Turi būti taikomos geros laboratorinės praktikos klinikinių mėginių surinkimui, transportavimui ir saugojimui; daugiau informacijos rasite atitinkamose nuorodose.⁷

8 - TYRIMO PROCEDŪRA

Leiskite plokštelėms atšilti iki kambario temperatūros ir išdžiūti terpės paviršiumi. Klinikinį mėginį įterpkite kuo greičiau po paėmimo; kilpa nubrėžkite keturis plokštelės ketvirčius, kad gautumėte gerai izoliuotas kolonijas. Jei medžiaga kultivuojama tiesiogiai iš tampono, tamponą perbraukite per nedidelį paviršiaus plotą krašte; tada nubrėžkite iš šio įterpto ploto. Odos mėginių atveju mėginį švelniai įspauskite į terpę.

Inokuliuokite kiekvieną mėginį du kartus; vieną rinkinį inkubuokite aerobinėmis sąlygomis 22–25 °C temperatūroje, kitą – 33–37 °C temperatūroje.⁸ Dermatofitų atveju kultūras reikia tirti kas 4–6 dienas iki 20 dienų; kitų atveju inkubuoti 2–5 dienas. Ilgai inkubuojant plokšteles reikia inkubuoti padidinto drėgnumo sąlygomis.

Vartotojas yra atsakingas už tinkamo inkubacijos laiko ir temperatūros pasirinkimą, priklausomai nuo apdorujamo mėginio, atkuriamų organizmų reikalavimų ir vietoje taikomų protokolų.



9 - SKAITYMAS IR INTERPRETAVIMAS

Klinikinis mėginys: po inkubacijos stebėkite bakterijų augimą ir užrašykite kolonijų ir subkultūros specifines morfologines ir chromatinės savybes, kad galėtumėte atlikti tolesnius identifikavimo tyrimus.

Dermatofitai ir grybai auga tipinėmis, būdingomis kolonijų formomis. Pavyzdžiui, *T. mentagrophytes* sudaro 2–3 cm dydžio baltas kolonijas su baltomis sporomis, *T. rubrum* sudaro 2–3 cm dydžio kreminės spalvos kolonijas su baltomis sporomis ir rausvos spalvos apačia, *A. brasiliensis* sudaro apytikriai 3–5 cm dydžio kolonijas, kurios atrodo kaip „druska ir pipirai“ dėl tamsių pigmentuotų konidijų, gausiai esančių ant konidioforų, o *C. albicans* sudaro balkšvas, lygus, apvalias, kreminės spalvos, šiek tiek išgaubtas kolonijas.

10 - VARTOTOJO KOKYBĖS KONTROLĖ

Visos pagamintos produkto partijos yra išleidžiamos į pardavimą po to, kai atlikta kokybės kontrolė, siekiant patikrinti atitiktį specifikacijoms. Tačiau galutinis vartotojas gali atlikti savo kokybės kontrolę pagal vietos galiojančius reglamentus, laikydamasis akreditacijos reikalavimų ir remdamasis laboratorijos patirtimi. Toliau pateikiami kai kurie bandymų štamai, naudingi kokybės kontrolei.

KONTROLINIAI ŠTAMAI	INKUBACIJA /T/ATM	TIKĖTINI REZULTATAI
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	20–25 °C / ≤ 5 dienos/ A	geras augimas, baltos mielių kolonijos
<i>T. mentagrophytes</i> ATCC 9533	20–25 °C / ≤ 5 dienos/ A	geras augimas, baltos kolonijos su tipine morfologija
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	20–25 °C / ≤ 5 dienos/ A	geras augimas, baltos/juodos kolonijos su tipine morfologija
<i>E. coli</i> ATCC 25922	25–35 °C / ≤ 5 dienos / A	slopinamas

A: aerobinė inkubacija; ATCC yra American Type Culture Collection prekės ženklas

11 - VEIKIMO CHARAKTERISTIKOS

Prieš pateikiant į rinką, visų paruoštų naudoti Sabouraud Dextrose Agar + CAF + Gentamicin plokštelių partijų reprezentatyvusis mėginys yra tikrinamas dėl produktyvumo ir selektyvumo.

Produktyvumas tiriamas pusiau kiekybiniu ekometrinės technikos metodu, naudojant šias bakterijų rūšis: *C. albicans* ATCC 10231, *T. mentagrophytes* ATCC 9533 ir *A. brasiliensis* ATCC 16404. Po inkubacijos 20–25 °C temperatūroje iki 72 valandų, įvertinamas ir užregistruojamas augimas ant plokštelių ir kolonijų charakteristikos: jos turi atitikti specifikacijas.

Selektyvumas vertinamas modifikuotu Miles-Misra paviršiaus lašų metodu, įterpiant į lėkšteles tinkamus dešimtainius skiedimus fiziologiniame tirpale su 0,5 McFarland suspensija netikslinių štamų *E. coli* ATCC 25922. *E. coli* augimas visiškai slopinamas.

Tikslumas buvo įvertintas peržiūrint kokybės kontrolės duomenis. Buvo įvertinti 20 partijų, pagamintų nuo 2019 m. sausio 30 d. iki 2020 m. gruodžio 2 d., rezultatai. 100 % partijų atitiko nustatytus priimtino kriterijus produktyvumo, morfologinių ir chromatinės charakteristikų su tiksliniais štamais bei selektyvumo su netiksliniais štamais atžvilgiu.

12 - METODO APRIBOJIMAI

- Chloramfenikolis ir gentamicinas gali slopinti kai kurių patogeninių grybų augimą^{8,9}.
- Viena terpė retai kada yra pakankama, kad būtų galima išskirti visus mėginyje esančius patogenus. Todėl reikėtų naudoti papildomas terpes mielių ir pelėsių izoliavimui, kurios yra mažiau selektyvios, pvz., Sabouraud dekstrozės agaras arba bulvių dekstrozės agaras, ir labiau selektyvios, pvz., dermatitų testavimo terpė.
- Augimas šioje terpėje priklauso nuo kiekvieno mikroorganizmo metabolizmo poreikių ir jo atsparumo esantiems antimikrobinėms medžiagoms. Kai kurios tikslinės padermės gali neaugti arba augti lėčiau. Augimo nebuvimas arba tipinių kolonijų nebuvimas nereiškia, kad mėginyje nėra mielių ir pelėsių.
- Norint visiškai identifikuoti ir epidemiologiškai tipizuoti kolonijas, reikia atlikti papildomus tyrimus. Prireikus, antimikrobinio jautrumo tyrimai turėtų būti atliekami naudojant rekomenduojamus metodus.
- Prietaisas nėra skirtas infekcijoms diagnozuoti ar antimikrobinio gydymo rekomendacijoms teikti. Jis skirtas naudoti kaip diagnostikos proceso dalis, siekiant gauti mikrobu kolonijas, izoliuotas iš klinikinių mėginių, paimtų iš pacientų, įtariamų grybeline infekcija.

13 - ATSARGUMO PRIEMONĖS IR ĮSPĖJIMAI

- Šis produktas yra kokybinis *in vitro* diagnostikos prietaisas, skirtas tik profesionaliam naudojimui, nėra automatizuotas ir nėra papildoma diagnostikos priemonė. Jį turi naudoti tinkamai apmokyti ir kvalifikuoti laboratorijos darbuotojai, laikydamiesi biologinio pavojaus atsargumo priemonių ir aseptikos reikalavimų.
- Pagal galiojančius Europos Sąjungos teisės aktus šis produktas nėra klasifikuojamas kaip pavojingas.
- Ši auginimo terpė yra gyvūninės kilmės žaliavų. Todėl rekomenduojama naudoti paruoštas plokšteles kaip potencialiai užkrečiamas ir elgtis su jomis laikantis įprastų specialiųjų atsargumo priemonių: nevertoti, neįkvėpti, neleisti liestis su oda, akimis, gleivinėmis. Atsisiųskite TSE pareiškimą iš svetainės www.biolifeitaliana.it, kuriame aprašomos priemonės, taikomos siekiant sumažinti su užkrečiamomis gyvūnų ligomis susijusią riziką.
- Visi laboratoriniai mėginiai turėtų būti laikomi infekciniais.
- Laboratorijos patalpos turi būti kontroliuojamos, kad būtų išvengta užteršimo, pvz., kultūrinės terpės ar mikrobu.
- Kiekviena šio auginimo terpės plokštelė skirta vienkartiniam naudojimui.
- Paruošti naudoti indai nelaikomi „steriliais produktais“, nes jie nėra galutinai sterilizuojami, bet yra produktai su kontroliuojamu biologiniu užteršimu, neviršijančiu kokybės kontrolės sertifikate nurodytų specifikacijų ribų.
- Prieš išmesdami sterilizuokite visas biologinio pavojaus atliekas ir išmeskite nenaudotą terpę bei sterilizuotas lėkšteles, į kurias buvo įterpti mėginiai arba mikrobu štamai, laikydamiesi galiojančių vietos teisės aktų.
- Produkto analizės sertifikatai ir saugos duomenų lapas yra pateikti interneto svetainėje www.biolifeitaliana.it.
- Apie bet kokį rimtą incidentą, susijusį su *in vitro* diagnostikos priemonių naudojimu, praneškite gamintojui (complaint@biolifeitaliana.it) ir atitinkamoms institucijoms.
- Gamintojas neatsako už jokių nuostolių ar žalą, kurie kokių nors būdu atsiranda dėl produkto naudojimo nesilaikant pateiktų instrukcijų arba yra su tuo susiję.

14 - LAIKYMO SĄLYGOS IR GALIOJIMO LAIKAS

Gavus plokšteles, jas reikia laikyti originalioje pakuotėje 2–8 °C temperatūroje, apsaugant nuo tiesioginių saulės spindulių. Tinkamai laikomos plokštelės gali būti naudojamos iki galiojimo pabaigos datos. Po šios datos plokštelių naudoti negalima. Atidaryto plastikinio maišelio plokštelės galima naudoti 7 dienas, jei jos laikomos švarioje vietoje 2–8 °C temperatūroje. Plokštelių nenaudokite, jei plastikinis maišelis yra pažeistas arba indas yra sudaužytas. Plokštelių nenaudokite, jei yra gedimo požymių (pvz., mikrobiologinis užteršimas, dehidracija, terpės susitraukimas ar įtrūkimai, netipinė spalva, drėgmės perteklius).



15- NUORODOS

1. Espinel-Ingroff A. History of medical mycology in the United States. Clin Microbiol Rev 1966;9:235-272
2. Sabouraud R. Contribution a l'etude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bacteriologique sur la pluralite des trichophytens de l'homme. Ann Dermatol Syphilol 1892; 3:1061-1087.
3. Weidman FD, Spring D. Comparison of ringworm culture ingredients: II and III. Arch Dermatol Syphilol 1928; 18:829-851.
4. Hodges RS. Cultures of ringworm fungi on Sabouraud's proof mediums and on mediums prepared with American peptones and sugars. Arch Dermatol Syphilol 1928; 18:852-856.
5. European Pharmacopoeia, current edition
6. Merz WG, Sanford G, Evans L. Clinical Evaluation of the Addition of Gentamicin to Commercially Prepared Mycological Media. J Clin Microbiol 1976; 3: 496-500
7. Lindsley MD. Specimen Collection, Transport and Processing: Mycology. In Carrol KC, Pfaller MA et al. editors. Manual of clinical microbiology, 12th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 2019.
8. MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
9. Dolan CT. Optimal combination and concentration of antibiotics in media for isolation of pathogenic fungi and Nocardia asteroides. Applied Microbiology, 01 Feb 1971, 21(2):195-197

TAIKOMŲ SIMBOLIŲ LENTELĖ

 Katalogo numeris	 Partijos kodas	 <i>In vitro</i> diagnostikos medicinos prietaisas	 Gamintojas	 Šia puse į viršų	 Tik vienkartiniam naudojimui	 Europos atitikties ženklas
 Temperatūros apribojimai	 Turinio pakanka <n> bandymams	 Žiūrėkite elektronines naudojimo instrukcijas	 Naudoti iki	 Laikyti toliau nuo saulės spindulių	 Trapus, tvarkyti atsargiai	 Unikalus prietaiso identifikatorius

REVIZIJŲ ISTORIJA

Versija	Pakeitimų aprašymas	Data
1 redakcija	Atnaujintas išdėstymas ir turinys pagal IVDR 2017/746	2020/08
2 redakcija	Pasenusios klasifikacijos pašalinimas	2023/03
3 redakcija	Pakeisti skyriai: veikimo charakteristikos, metodo apribojimai, atsargumo priemonės ir įspėjimai, taikytinų simbolių lentelė.	2026/02

Pastaba: nedideli tipografiniai, gramatiniai ir formatavimo pakeitimai nėra įtraukti į peržiūrų istoriją.

