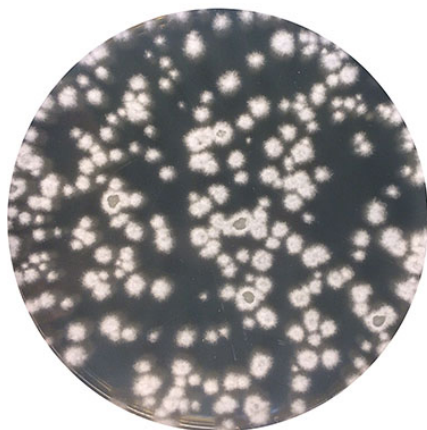




ANVÄNDNINGSSINSTRUKTIONER

SABOURAUD DEXTROSE AGAR CAF 500

Dehydrerat odlingsmedium

Sabouraud Dextrose Agar CAF 500: *Aspergillus* sp.**1 – AVSEDD ANVÄNDNING**

In vitro-diagnostik. Selektivt medium för isolering av jäst och mögel i kliniska prover.

2 – TYPISK SAMMANSÄTTNING ***(EFTER REKONSTITUERING MED 1 LITER VATTEN)**

Pankreatisk nedbrytning av kasein	5,0 g
Peptisk nedbrytning av kött	5,0 g
Glukos	40,0 g
Agar	15,0 g
Kloramfenikol	0,5 g

*Formeln kan justeras och/eller kompletteras för att uppfylla de erforderliga prestandakriterierna.

3 – METODENS PRINCIP OCH FÖRKLARING AV FÖRFARANDET

I slutet av 1890-talet hade Raymond Jacques Sabouraud sammanställt och organiserat de spridda observationerna om patogena svampars roll i dermatofytiska infektioner och föreslog ett medium för deras isolering och klassificering.^{1,2} Weidman och Spring³ genomförde ett stort antal experiment för att förbättra Sabourauds formel med olika peptoner och kolhydrater, men det lämpliga mediet valdes ut av Hodges⁴. I sin slutliga formulering innehöll detta medium 1 % pepton, 4 % dextros och 1,8 % agar, med ett slutligt pH-värde på 5,0. Denna formulering fick namnet Sabouraud-medium och är det grundläggande rutinmässiga odlingsmediet som används för att odla svampar i kliniska laboratorier.

Komponenterna i Sabouraud Dextrose Agar överensstämmer med rekommendationerna i den aktuella europeiska farmakopén⁵. Tillsatsen av kloramfenikol i en koncentration av 500 mg/L är en modifiering som syftar till att öka bakteriehämningen och förbättra isoleringen av opportunistiska svampar från kontaminerade prover.

Sabouraud Dextrose Agar CAF 500 är ett selektivt medium för isolering av jäst och mögel, främst opportunistiska patogener (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Rhizopus*, osv.), cykloheximidkänsliga svampar såsom *Cryptococcus neoformans* och *Allescheria boydii* samt *Candida* spp. i kliniska prover.

Pankreatisk nedbrytning av kasein och peptisk nedbrytning av kött tillför kväve, kol och spårämnen för mikrobiell tillväxt. Glukos i hög koncentration är en källa till kol och energi. Det låga pH-värdet är gynnsamt för svamptillväxt och hämmar något kontaminerande bakterier. De selektiva egenskaperna förstärks av kloramfenikol, ett bredspektrumantibiotikum som hämmar ett stort antal gramnegativa och grampositiva bakterier. Den högre koncentrationen av kloramfenikol (500 mg/L) jämfört med standardformuleringar (50 eller 100 mg/l) hämmar inte svamptillväxt och ökar mediets selektiva egenskaper gentemot bakteriella föroreningar, särskilt *Pseudomonas*.⁶

4 – ANVISNINGAR FÖR BEREDNING AV MEDIUM

Lös upp 65,5 g i 1 000 ml kallt renat vatten. Värm till kokning under kraftig omrörning och sterilisera genom autoklavering vid 121 °C i 15 minuter. Kyl till 47–50 °C, blanda väl och håll i sterila petriskålar.

Anmärkningar

Överskrid inte kok- och steriliseringsstiderna och -temperaturerna.

Alternativt kan man fördela i skruvlockade rör före sterilisering och låta stelna i lutande läge.

5 – FYSISKA EGENSKAPER

Utseende på dehydratiserat medium

gult, fint, homogent, fritt flytande pulver

Utseende på lösning och beredda plattor

gult, klart

Slutligt pH vid 20–25 °C

5,6 ± 0,2

6 – MATERIAL SOM TILLHANDAHÅLLS

Produkt	Typ	REF	Förpackning
Sabouraud Dextrose Agar CAF 500	Dehydrerat medium	4020072	500 g (7,6 L)

7 – MATERIAL SOM KRÄVS MEN INTE TILLHANDAHÅLLS

Autoklav, vattenbad, sterila öglor och svabbprover, inkubator och laboratorieutrustning efter behov, petriskålar, Erlenmeyerkolvar, kompletterande odlingsmedier och reagenser för identifiering av kolonierna.

8 – PROVER

Sabouraud Dextrose Agar CAF 500 kan direkt inokuleras med många kliniska prover som samlats in från olika normalt icke-sterila platser på människor. Se den angivna litteraturen för provtyper relaterade till specifika infektioner.⁷⁻⁸ Sabouraud Dextrose Agar CAF 500 är inte lämpligt för direkt inokulation av blodprover eller andra prover från normalt sterila platser. Samla in prover före antimikrobiell behandling om möjligt. God laboratoriesed för insamling, transport och förvaring av kliniska prover bör tillämpas. Se lämpliga referenser för ytterligare information.⁷





9 – TESTFÖRFARANDE

Låt plattorna anta rumstemperatur och låt ytan på mediet torka. Inokulera det kliniska provet så snart som möjligt efter insamling; stryk med en ögla över de fyra kvadranterna på plattan för att få väl isolerade kolonier. Alternativt, om materialet odlas direkt från en bomullspinne, rulla bomullsspinnen över ett litet område på ytan vid kanten; stryk sedan från detta inokulerade område. För hudprover, tryck provet lätt mot mediet.

Inokulera varje prov i två exemplar; inkubera det ena exemplaret under aeroba förhållanden vid 22–25 °C och det andra vid 33–37 °C.⁹

För dermatofyter, undersök odlingarna var 4–6 dag under en period på upp till 20 dagar; för andra, inkubera 2–5 dagar. Plattorna bör inkuberas under förhållanden med ökad luftfuktighet under långvarig inkubering.

Användaren ansvarar för att välja lämplig inkubationstid och temperatur beroende på det bearbetade provet, kraven för de organismer som ska återvinnas och lokalt tillämpliga protokoll.

10 – AVLÄSNING OCH TOLKNING

Kliniskt prov: Efter inkubation observerar du bakterietillväxten och registrerar de specifika morfologiska och kromatiska egenskaperna hos kolonierna och subkulturen till lämpliga medier för ytterligare identifieringstester.

11 – ANVÄNDARENS KVALITETSKONTROLL

Alla tillverkade partier av produkterna släpps för försäljning efter att kvalitetskontrollen har utförts för att kontrollera att specifikationerna uppfylls. Slut användaren kan dock utföra sin egen kvalitetskontroll i enlighet med lokala tillämpliga bestämmelser, i enlighet med ackrediteringskrav och laboratoriets erfarenhet. Nedan listas några teststammar som är användbara för kvalitetskontroll.¹⁰

KONTROLLSTAMMAR	INKUBATIONSTEMPERATUR/ T / ATM	FÖRVÄNTADE RESULTAT
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	20–25 °C / ≤ 5 dagar/ A	god tillväxt, vita jästliknande kolonier
<i>T.mentagrophytes</i> ATCC 9533	20–25 °C / ≤ 5 dagar/ A	god tillväxt, vita kolonier med typisk morfologi
<i>A.brasiliensis</i> ATCC 16404	20–25 °C / ≤ 5 dagar/ A	god tillväxt, vita/svarta kolonier med typisk morfologi
<i>E.coli</i> ATCC 25922	20–25 °C / ≤ 5 dagar/ A	hämrad

A: aerob inkubation; ATCC är ett varumärke som står för American Type Culture Collection

12 – PRESTANDAEGENSKAPER

Innan produkten släpps ut på marknaden testas ett representativt prov från alla partier av dehydrerad Sabouraud Dextrose Agar CAF 500 med avseende på produktivitet och selektivitet genom att resultaten jämförs med ett tidigare godkänt referensparti.

Produktiviteten testas med hjälp av en semikvantitativ ekometrisk teknik med målstammarna *C.albicans* ATCC 10231, *A.brasiliensis* ATCC 16404, *S.cerevisiae* ATCC 9763, *P.chrysogenum* ATCC 10106, *T.mentagrophytes* ATCC 9533, *M.canis* ATCC 36299.

Efter inkubation vid 20–25 °C i upp till tre dagar utvärderas och registreras tillväxten på plattorna och koloniernas egenskaper: de ska vara jämförbara i båda satserna.

Selektiviteten utvärderas med modifierad Miles-Misra-ytdroppmetod genom att inokulera plattorna med lämpliga decimala utspädningar i saltlösning av en 0,5 McFarland-suspension av icke-målstammarna *E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 14207 och *S.aureus* ATCC 25923. Tillväxten av icke-målstammar hämmas helt.

13 – METODENS BEGRÄNSNINGAR

- Kloramfenikol kan hämma vissa patogena svampar (t.ex. *Actinomyces bovis* och *Nocardia asteroides*).^{6,9}
- Sabouraud Dextrose Agar CAF 500 har dålig effektivitet vid isolering av *Histoplasma capsulatum* från potentiellt kontaminerade kliniska prover.¹¹
- Ett enda medium är sällan tillräckligt för att återvinna alla patogener som finns i ett prov. Därför bör ytterligare medier för isolering av jäst och mögel med lägre selektivitet, såsom Sabouraud Dextrose Agar eller Potato Dextrose Agar, och med olika selektiva föreningar, såsom Dermatophyte Test medium, användas.
- Även om de mikrobiella kolonierna på plattorna kan särskiljas på grundval av sina morfologiska och kromatiska egenskaper, rekommenderas att biokemiska, immunologiska, molekylära eller masspektrometriska tester utförs på isolat från renkultur för fullständig identifiering. Om det är relevant, utför test av antimikrobiell känslighet.
- Detta odlingsmedium är avsett som ett hjälpmedel vid diagnos av infektionssjukdomar. Tolkningen av resultaten måste göras med hänsyn till patientens kliniska historia, provets ursprung och resultaten från andra diagnostiska tester.

14 – FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER OCH VARNINGAR

- Det här är en produkt för kvalitativ *in vitro*-diagnostik, endast avsedd för professionellt bruk. Den ska användas av adekvat utbildad och kvalificerad laboratoriepersonal som iakttar godkända försiktighetsåtgärder mot biologiska risker och aseptiska tekniker.
- Uttorkade medier måste hanteras med lämpligt skydd. Konsultera säkerhetsdatabladet före användning.
- Detta odlingsmedium innehåller råmaterial av animaliskt ursprung. Kontroller av djuren *före* och *efter slakt* samt under produktions- och distributionscykeln för råvarorna kan inte helt garantera att denna produkt inte innehåller några överförbara patogener. Det rekommenderas därför att kulturmediet behandlas som potentiellt smittsamt och hanteras med iakttagande av de vanliga särskilda försiktighetsåtgärderna: förtär inte, andas inte in och undvik kontakt med hud, ögon eller slemhinnor. Ladda ner TSE Statement från webbplatsen www.biolifeitaliana.it, som beskriver de åtgärder som Biolife Italiana har vidtagit för att minska riskerna i samband med smittsamma djursjukdomar.
- Tillämpa god tillverkningsmetod vid beredningen av odlingsmedier på plattor, i rör eller flaskor.
- Alla laboratorieprover ska betraktas som smittsamma.
- Laboratorieområdet måste kontrolleras för att undvika föroreningar som odlingsmedium eller mikrobiella agens.
- Sterilisera allt biologiskt riskavfall innan det kasseras. Kassera det oanvända mediet och de steriliserade plattorna som inokulerats med prover eller mikrobiella stammar i enlighet med gällande lokal lagstiftning.
- Använd inte odlingsmediet som aktiv ingrediens i farmaceutiska preparat eller som produktionsmaterial avsett för konsumtion av människor och djur.
- Analyscertifikaten och säkerhetsdatabladet för produkten finns tillgängliga på webbplatsen www.biolifeitaliana.it.
- Meddela Biolife Italiana Srl (complaint@biolifeitaliana.it) och berörda myndigheter om allvarliga incidenter som inträffar i samband med användningen av *in vitro*-diagnostik.





- Informationen i detta dokument har definierats efter bästa kunskap och förmåga och utgör en riktlinje för korrekt användning av produkten men utan förpliktelse eller ansvar. I alla fall måste gällande lokala lagar, förordningar och standardförfaranden följas vid undersökning av prover som tagits från mänskliga och djuriska organ, miljöprover och produkter avsedda för konsumtion av människor eller djur. Vår information befriar inte våra kunder från deras ansvar att kontrollera att våra produkter är lämpliga för det avsedda ändamålet.

15 – FÖRVARINGSFÖRHÅLLANDEN OCH HÅLLBARHET

Förvaras vid +10 °C /+30 °C på en torr plats, skyddad från direkt ljus. Vid korrekt förvaring kan produkten användas fram till utgångsdatum. Använd inte produkten efter detta datum. Undvik att öppna flaskan på fuktiga platser. Efter användning måste behållaren stängas ordentligt. Kassera produkten om behållaren och/eller locket är skadade, eller om behållaren inte är väl tillsluten, eller vid uppenbar försämring av pulvret (färgförändringar, hårdning, stora klumpar). Användaren ansvarar för tillverknings- och kvalitetskontrollprocesserna för beredda medier och för valideringen av hållbarhetstiden för de färdiga produkterna, beroende på typ (plattor/rör/flaskor) och den tillämpade förvaringsmetoden (temperatur och förpackning).

16 – REFERENSER

- Espinel-Ingroff A. History of medical mycology in the United States. Clin Microbiol Rev 1966;9:235-272
- Sabouraud R. Contribution à l'étude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bactériologique sur la pluralité des trichophytons de l'homme. Ann Dermatol Syphil 1892; 3:1061-1087.
- Weidman FD, Spring D. Comparison of ringworm culture ingredients: II and III. Arch Dermatol Syphilol 1928; 18:829-851.
- 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.
- European Pharmacopoeia, current edition
- McLean Jr IW, Schwab JL, Hillegas AB, Schlingman AS. Susceptibility of microorganisms to chloramphenicol (chloromycetin). J Clin Invest. 1949; 28(5):953-963.
- Berkow EL, McGowan KL. 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.
- Public Health England- UK SMI B 17: tissues and biopsies from deep-seated sites and organs. 05.01.18
- MacFaddin JF. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins; 1985.
- CLSI (formerly NCCLS) Quality Control of Commercially Prepared Culture Media. Approved Standard, 3rd edition. M22 A3 vol. 24 n° 19, 2004
- Unis G, da Silva VB, Severo LC. Disseminerad histoplasmos och AIDS. The role of culture medium for the bronchoscopic clinical specimens Rev Soc Bras Med Trop. 2004;37:234-7

TABELL ÖVER TILLÄMPLIGA SYMBOLER

REF eller REF Katalognummer	LOT Batch-kod	IVD Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik	Tillverkare	Använd senast
Temperaturbegränsning	Innehållet räcker till <n> tester	Se bruksanvisningen	Förvara skyddat från direkt ljus	Förvaras torrt

REVIDERINGSHISTORIK

Version	Beskrivning av ändringarna	Datum
Revidering 1	Uppdaterad layout och innehåll	2022/04
Revidering 2	Borttagning av föråldrad klassificering	2023/04

Anmärkning: mindre typografiska, grammatiska och formateringsändringar inkluderas inte i granskningshistoriken.

