

**PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI****I WPROWADZENIE**

Podłoże **Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum** (zmodyfikowany bulion **Trichosel** z 5% surowicą końską) służy do izolacji i hodowli gatunków *Trichomonas*.

II PROCEDURA TESTU WYDAJNOŚCI

- Wykonać posiew reprezentacyjnej próby podłoża hodowlami wymienionych poniżej szczepów.
 - T. vaginalis*: posiew bezpośrednio czystej hodowli macierzystej.
 - W przypadku innych drobnoustrojów zaszczyć pasmowo 1 µL (0,001 mL) z 4 – 5 h hodowli na podłożu **Trypticase Soy Broth** (TBS, bulion sojowy) rozcieńczonym w celu uzyskania $10^6 - 10^7$ CFU/mL.
 - Inkubować w temperaturze 35 ± 2 °C, przez 48 godzin w odpowiednich warunkach atmosferycznych.
 - Dołączyć próbówki z wcześniej badaną serią TSB jako nieselektywne kontrole.
- Zbadać próbówki pod kątem wzrostu *T. vaginalis*. Po 48 godz. inkubacji wykonać z próbówki *Trichomonas* preparat mokry i zbadać go pod mikroskopem przy małym powiększeniu pod kątem obecności wiciowców. Jeżeli wynik jest ujemny, inkubować przez dodatkowe 24 godziny w temp. 35 ± 2 °C i zbadać ponownie.
- Oczekiwane wyniki

Drobnoustroje	ATCC	Odzysk
<i>Candida albicans</i>	10231	Wzrost dość dobry lub intensywny
* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Zahamowanie (częściowe do całkowitego)
* <i>Trichomonas vaginalis</i>	30001	Wzrost od umiarkowanego do intensywnego

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

- Oceń próbówki według opisu w części „Pogorszenie jakości produktu”.
- Wzrokowo oceń reprezentatywne próbówki, aby upewnić się, że w ich użytkowaniu nie będą przeszkadzały żadne wady fizyczne.
- Określić potencjometrycznie wartość pH w temperaturze pokojowej, aby upewnić się, że odczyn jest zgodny ze specyfikacją i wynosi $6,0 \pm 0,2$.
- Inkubować niezaszczepione, reprezentatywne próbówki w temperaturze 30 – 35 °C oraz 20 – 25 °C przez 72 godziny, po czym zbadać je pod kątem skażenia mikrobiologicznego.

INFORMACJA O PRODUKCIE**IV PRZEZNACZENIE**

Podłoże **Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum** (zmodyfikowany bulion **Trichosel** z 5% surowicą końską) służy do izolacji i hodowli gatunków *Trichomonas*.

V STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Podłoże **BBL Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum** jest zmodyfikowaną wersją podłoża uproszczona surowica **Trypticase** (STS, ang. Simplified Trypticase Serum) opracowanego przez Kupferberga i in. do hodowli *Trichomonas* spp.¹ Klasyczny skład został zmodyfikowany poprzez dodanie ekstraktu wołowego, surowicy końskiej i większej ilości ekstraktu drożdżowego w celu zwiększenia wydajności. Penicylinę i streptomycynę zalecane jako dodatek do bazy STS zastąpiono chloramfenikolem, który jest względnie stabilnym antybiotykiem.

VI ZASADY PROCEDURY

Podłoże **BBL Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum** zawiera pepton kazeinowy, cysteinę, ekstrakt wołowy i ekstrakt drożdżowy stanowiące źródło aminokwasów, azotu, siarki, węgla, witamin i elementów śladowych. Maltoza stanowi źródło energii dla metabolizmu drobnoustrojów, w tym *Trichomonas* spp. Chloramfenikol jest antybiotykiem o szerokim spektrum działania, hamującym wzrost wielu różnych bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich. Surowica końska zawiera niezbędne dla *Trichomonas* spp. czynniki wzrostu.

VII ODCZYNNIKI**BBL Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum**

Przybliżony skład* w przeliczeniu na litr wody oczyszczonej

Trzustkowy wyciąg kazeiny	12,0 g	Agar	1,0 g
Ekstrakt wołowy	2,0 g	Chloramfenikol	0,1 g
Ekstrakt drożdżowy	5,0 g	Błękit metylenowy	3,0 mg
Chlorowodorek L-cysteiny	1,0 g	Surowica końska	5%
Maltoza	2,0 g		

*Skorygowany i/lub uzupełniony zgodnie z wymaganiami, których celem jest spełnienie kryteriów wydajności.

Ostrzeżenia i środki ostrożności: Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Probówki z ciasno dokręconymi nakrętkami należy otwierać ostrożnie, aby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła.

W próbkach pochodzenia klinicznego mogą być obecne drobnoustroje chorobotwórcze, w tym wirusy zapalenia wątroby i wirus HIV. Podczas pracy z wszelkimi materiałami zanieczyszczonymi krwią i innymi płynami ustrojowymi należy stosować „Standardowe środki ostrożności”²⁻⁵ oraz przestrzegać wytycznych obowiązujących w danym laboratorium. Przed użyciem należy wysterylizować w autoklawie pojemniki na próbki i inne materiały skażone.

Przechowywanie: Otrzymane probówki umieścić i przechowywać w ciemnym miejscu, w temperaturze 2 – 8 °C. Unikać zamrażania i przegrzewania. Otwierać bezpośrednio przed użyciem. Ograniczać do minimum ekspozycję na światło. W podłożach, które do momentu użycia przechowywane są w probówkach zgodnie z instrukcjami podanymi na etykiecie, można wykonywać posiewy do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację przez zalecany czas. Przed posiewem ogrzać podłoże do temperatury pokojowej.

Pogorszenie jakości produktu: Nie należy używać probówek, jeżeli są w nich widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wytrącenia osadu, parowania lub inne objawy wskazujące na pogorszenie jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI

Dostępne są różne techniki postępowania z próbkami umożliwiającymi uzyskanie hodowli. Szczegółowe informacje znajdują się w odpowiednich pozycjach piśmiennictwa.^{6,7} Probki należy uzyskać przed zastosowaniem środków przeciwbakteryjnych. Probki powinny zostać niezwłocznie dostarczone do laboratorium.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały: BBL Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum

Materiały wymagane, ale niedostarczane: Pomocnicze podłoża hodowlane, odczynniki, drobnoustroje do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodne z wymaganiami.

Procedura testowa: Stosować techniki aseptyczne.

Posiać próbki podejrzewane o obecność drobnoustrojów *Trichomonas* na podłoże bulionowe za pomocą wymazówek zawierających próbkę lub, w zależności od potrzeb, przy użyciu innej metody. Inkubować probówki w temperaturze 35 °C ± 2 °C w warunkach tlenowych. Po 48 godz. i następnie po 5 dniach inkubacji wykonać z bulionu preparat mokry i zbadać go pod mikroskopem przy małym powiększeniu pod kątem obecności wiciowców.

Kontrola jakości przez użytkownika: Patrz „Procedury kontroli jakości”.

Należy spełniać wymagania kontroli jakości zgodnie z odpowiednimi przepisami prawa lokalnego, stanowego i/lub federalnego, z wymaganiami akredytacji i standardowymi procedurami kontroli jakości danego laboratorium. Zaleca się skorzystanie z odpowiednich wytycznych CLSI lub przepisów CLIA w celu ustalenia właściwych zasad kontroli jakości.

X WYNIKI

Jeśli nastąpił wzrost *Trichomonas* spp., podczas badania próbki podłoża bulionowego pod mikroskopem przy małym powiększeniu będą w niej widoczne drobnoustroje o typowej morfologii.

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

Składniki podłoża selektywnego mogą hamować wzrost niektórych pożądaných gatunków lub umożliwiać wzrost gatunków, które powinny hamować, zwłaszcza jeśli ich liczba w próbce jest duża.

XII CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA

W badaniu Dawsona i in.⁸ porównano sześć metod pod kątem zdolności wykrywania *Trichomonas vaginalis* u 214 aktywnych seksualnie nastoletnich kobiet. Do sześciu zastosowanych metod należały: hodowla w bulionie BBL Trichosel, hodowla w podłożu PEM-T (HDC Corp.), preparat mokry w soli fizjologicznej, preparat barwiony oranżem akrydyny, preparat barwiony Diff-Quik (Dade) oraz rozmazy wykonane metodą Papanicolaou. Spośród 214 próbek poddanych badaniu na obecność *T. vaginalis* 25% dało wynik dodatni w przypadku co najmniej jednej ze stosowanych metod.

Poniżej przedstawiono czułości i ujemne wartości predykcyjne (NPV) różnych metod:

	Hodowla Trichosel	Hodowla PEM-T	Oranż akrydyny	Diff-Quik	Preparat mokry	Rozmaz PAP
Czułość	73,1%	40,5%	82,6%	78,3%	61,5%	65,8%
NPV	91,5%	84,1%	94,7%	93,4%	88,0%	86,7%

XIII DOSTĘPNOŚĆ

Nr kat. **Opis**

298323 BBL Trichosel Broth, Modified, with 5% Horse Serum, opakowanie 10 probówek

XIV PIŚMIENNICTWO

1. Kupferberg, A.B., G. Johnson, and H. Sprince. 1948. Nutritional requirements of *Trichomonas vaginalis*. Proc Soc. Exp. Biol. Med. 67:304-308.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.

3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1999. *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis
8. Dawson, M.S., R. Mraz, B.K. Garner, R. Brookman and H.P. Dalton. 1985. Comparison of diagnostic tests for the detection of *Trichomonas vaginalis* in clinical specimens. *Abstr. C-16*, p. 302. *Abstr. 85th General Meeting of the American Society for Microbiology*. 1985.

 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds

 Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

BD, BD Logo, BBL, Trichosel and Trypticase are trademarks of Becton, Dickinson and Company. ©2013 BD.