



PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI

I WPROWADZENIE

Podłoże Schaedler Broth with Vitamin K₁ (bulion Schaedlera z witaminą K₁) to wzbogacone podłoże o ogólnym przeznaczeniu do hodowli wymagających bakterii tlenowych i beztlenowych.

II PROCEDURA KONTROLI DZIAŁANIA

1. Przed użyciem podgrzać probówki we wrzącej wodzie* i pozostawić do schłodzenia z zakręconymi nakrętkami.
***UWAGA:** Nie zaleca się korzystania z kuchenki mikrofalowej.
2. Podłoża zaszczenia się reprezentatywnymi próbkami wymienionych szczepów.
 - a. Posiew w probówkach z 1,0 mL rozcieńczeniami zawierającymi 1000 lub mniej CFU/mL dla wszystkich drobnoustrojów z wyjątkiem *Clostridium novyi* A. W przypadku *C. novyi* A wykonać posiew w probówkach z rozcieńczeniami 1,0 mL zawierającymi od 1×10^5 do 1×10^6 CFU/mL. Przygotować rozcieńczenia, stosując 18–24 h hodowle bakterii *Staphylococcus* i *Streptococcus* na podłożu **Trypticase** Soy Broth oraz 18–24 h hodowle pozostałych drobnoustrojów na podłożu Chopped Meat Carbohydrate Broth PR II.
 - b. Inkubować probówki z poluzowanymi nakrętkami w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$ w atmosferze tlenowej (szczepy *Staphylococcus* i *Streptococcus*) oraz w atmosferze beztlenowej wzbogaconej dwutlenkiem węgla w systemie **BD GasPak EZ** (w przypadku beztlenowców bezwzględnych).
3. Ocenic probówki pod względem wzrostu po 7 dniach.
4. Oczekiwane wyniki
**Peptostreptococcus anaerobius* Wzrost
ATCC 27337
Bacteroides fragilis Wzrost
ATCC 25285
**Clostridium novyi* A Wzrost
ATCC 7659
**Staphylococcus aureus* Wzrost
ATCC 25923
Streptococcus pneumoniae Wzrost
ATCC 6305
*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

1. Ocenic probówki według opisu w dziale „Pogorszenie jakości produktu”.
2. Wzrokowo ocenic reprezentatywne probówki, aby upewnić się, że żadne istniejące wady fizyczne nie będą przeszkadzały w ich użytkowaniu.
3. Inkubować reprezentatywne probówki bez wysianych drobnoustrojów w temperaturze od 20 do 25°C i od 30 do 35°C; ocenic po 7 dniach pod względem zanieczyszczenia drobnoustrojami.

INFORMACJE O PRODUKCIE

IV PRZEZNACZENIE

Podłoże Schaedler Broth jest stosowane do hodowli wymagających mikroorganizmów tlenowych i beztlenowych.

V STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Schaedler i jego wsp.¹ opracowali kilka składów podłoża przeznaczonego dla drobnoustrojów beztlenowych o wysokich wymaganiach odżywczych, takich jak bakterie *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Clostridium* i *Bacteroides*. Mata wraz ze współpracownikami² zmodyfikowali podłoże Schaedlera, zmieniając zawartość peptonu, zwiększając stężenie chlorku sodu,

redukując ilość dekstrozy i zmniejszając stężenie wyciągu z drożdży³. Bulion Schaedlera ma taki sam skład, jak agar Schaedlera, ale nie zawiera agaru.

VI ZASADA PROCEDURY

Podłoże charakteryzuje się dużą zawartością składników odżywczych ze względu na zawartość peptonów, dekstrozy oraz wyciągu z drożdży.

Hemina zapewnia czynnik X niezbędny do wzrostu drobnoustrojów o wysokich wymaganiach odżywczych. Dodatek witaminy K₁ umożliwia wzrost bakterii *Prevotella melaninogenica* i zwiększa wzrost niektórych szczepów *Bacteroides* oraz bakterii Gram-dodatnich, które nie wytwarzają przetrwalników^{4,5}.

Tym drobnoustrojów wykrywanych na tym płynnym podłożu zależy od środowiska inkubacji (tlenowego, tlenowego wzbogaconego dwutlenkiem węgla lub beztlenowego).

VII ODCZYNNIKI

Schaedler Broth with Vitamin K₁

Przybliżony skład* w przeliczeniu na 1 litr wody oczyszczonej

Trzustkowy hydrolizat kazeiny	8,2 g
Hydrolizat pepsynowy tkanki zwierzęcej	2,5 g
Hydrolizat papainowy mączki sojowej	1,0 g
Dekstroza	5,8 g
Wyciąg drożdżowy	5,0 g
Chlorek sodu	1,7 g
Wodorofosforan potasu	0,8 g
L-cystyna	0,4 g
Hemina	0,01 g
Witamina K ₁	0,01 g
Tris-(hydroksymetylo)-aminometan	3,0 g

*Skorygowany i/lub uzupełniony zgodnie z wymaganiami kryteriów działania.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Probówki z ciasno dopasowanymi zatyczkami należy otwierać ostrożnie, aby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła.

W próbkach mogą być obecne drobnoustroje patogenne, takie jak wirusy zapalenia wątroby i wirus HIV. Podczas pracy ze wszelkimi materiałami skażonymi krwią i innymi płynami ustrojowymi należy przestrzegać „Standardowych środków ostrożności”⁶⁻⁹ oraz wytycznych obowiązujących w danej placówce. Po użyciu wykorzystane probówki, pojemniki na próbki i inne skażone materiały przed wyrzuceniem należy wyjałowić w autoklawie.

Instrukcja przechowywania

Otrzymane probówki umieścić i przechowywać w ciemnym pomieszczeniu, w temperaturze 2–8°C. Unikać zamrażania i przegrzewania. Nie otwierać do chwili użycia. Do minimum ograniczać kontakt ze światłem. W pożywkach przechowywanych do momentu użycia 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 używać probówek, jeżeli są widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia lub inne, świadczące o pogorszeniu jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I OBCHODZENIE SIĘ Z NIMI

Próbki przeznaczone do hodowli można przygotowywać różnymi technikami. Szczegółowe informacje można znaleźć w stosownej literaturze^{10,11}. Probki należy pobrać przed podaniem środków przeciwbakteryjnych. Należy jak najszybciej dostarczyć próbki do laboratorium.

IX Procedura

Dostarczane materiały

Podłoże Schaedler Broth with Vitamin K₁

Materiały wymagane, ale niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki, szczepy do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Procedura testowa

Stosować techniki aseptyczne.

Wykonać posiew bezpośrednio na podłoże bulionu.

Podłoże płynne do inkubacji beztlenowej należy zredukować przed posiewem, poprzez umieszczenie probówek z poluzowanymi nakrętkami w warunkach beztlenowych (w systemie beztlenowych **BD GasPak EZ** lub równoważnym) na 18–24 h przed użyciem. Alternatywnie, podłoże płynne można zredukować bezpośrednio przed posiewem poprzez gotowanie* probówek z poluzowanymi nakrętkami i ostudzenie do temperatury pokojowej z nakrętkami dokręconymi.

Inkubować próbki i/lub butelki w temperaturze $35 \pm 2^\circ\text{C}$ w odpowiednim warunkach (tlenowych, beztlenowych lub z dodatkiem dwutlenku węgla) w czasie nieprzekraczającym 7 dni.

***UWAGA:** Nie zaleca się korzystania z kuchenki mikrofalowej.

Kontrola jakości przez użytkownika

Zobacz „Procedury kontroli jakości”.

Należy postępować zgodnie z obowiązującymi wymogami kontroli jakości, wynikającymi z przepisów miejscowych, krajowych i (lub) federalnych, wymogami akredytacji i rutynowymi procedurami kontroli jakości w danym laboratorium. Zaleca się, aby użytkownik stosował się do odpowiednich zaleceń CLSI i przepisów CLIA, dotyczących sposobów kontroli jakości.

X WYNIKI

Wzrost w probówkach jest widoczny jako zmętnienie w porównaniu z niezaszczepioną kontrolą.

W przypadku pojawienia się wzrostu należy przeprowadzić barwienie metodą Grama oraz hodowlę pochodną na odpowiednim podłożu, np. na płycie z TSA II i/lub agarem czekoladowym (Chocolate II Agar), płycie z agarem LEMB Agar lub agarem MacConkey II Agar itp. W przypadku podejrzenia obecności beztlenowców hodowle pochodne powinny być inkubowane w warunkach beztlenowych (system beztlenowy **BD GasPak EZ**).

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

Do identyfikacji niezbędne są czyste kultury drobnoustrojów. W celu ostatecznej identyfikacji należy przeprowadzić badania morfologiczne, biochemiczne i/lub serologiczne. Szczegółowe informacje i opisy zalecanych procedur można znaleźć w stosownej literaturze^{10–12}.

Pożywki hodowlane zawierają czasami martwe organizmy pochodzące ze składników pożywki, które mogą być widoczne w rozmazach z pożywek hodowlanych. Do innych źródeł martwych organizmów widocznych po zabarwieniu metodą Grama należą barwniki, olejki imersyjne, fragmenty szkła oraz próbki stosowane do posiewu. W przypadku wystąpienia niepewności związanej z prawidłowością barwienia metodą Grama należy przeprowadzić ponowną inkubację hodowli przez kolejną godzinę lub dwie, a następnie powtórzyć test przed wydaniem wyniku.

XII CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

Stalons i współpracownicy¹³ na podstawie badań określili, że bulion Schaedlera jest najbardziej skutecznym podłożem spośród 9 bulionów, w których testowano wzrost bakterii bezwzględnych beztlenowych inkubowanych w warunkach beztlenowych.

XIII DOSTĘPNOŚĆ

Nr kat.	Opis
221541	BD BBL Schaedler Broth with Vitamin K ₁ , opakowanie zawierające 10 probówek o rozmiarze K
221542	BD BBL Schaedler Broth with Vitamin K ₁ , pudełko zawierające 100 probówek o rozmiarze K

XIV PIŚMIENNICTWO

1. Schaedler, R.W., R. Dubos, and R. Costello. 1965. The development of the bacterial flora in gastrointestinal tract of mice. *J. Exp. Med.* 122:59-66.
2. Mata, L.J., C. Carrillo, and E. Villatoro. 1969. Fecal microflora in healthy persons in a preindustrial region. *Appl. Microbiol.* 17:596-602.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Gibbons, R.J., and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. *J. Bacteriol.* 80:164-170.
5. Finegold, S.M., V.L. Sutter, H.R. Attebery, and J.E. Rosenblatt. 1974. Isolation of anaerobic bacteria, p. 365-375. *In* E.H. Lennette, E.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, 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. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th 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. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. *Bergey's Manual™ of determinative bacteriology*, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
13. Stalons, D.R., C. Thornsberry, and V.R. Dowell, Jr. 1974. Effect of culture medium and carbon dioxide concentration on growth of anaerobic bacteria commonly encountered in clinical specimens. *Appl. Microbiol.* 27:1098-1164.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę 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