

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

I ВВЕДЕНИЕ

Бульон Шедлера с витамином K₁ Schaedler Broth with Vitamin K₁ — это обогащенная среда общего назначения, предназначенная для культивирования нетребовательных к питательной среде аэробных и анаэробных микроорганизмов.

II МЕТОДИКА ТЕСТИРОВАНИЯ

1. Нагрейте пробирки в кипящей воде* и дайте им остыть при закрытых крышках перед использованием.

***ПРИМЕЧАНИЕ.** Не рекомендуется использовать микроволновую печь.

2. Засейте репрезентативные образцы перечисленными далее культурами.
 - a. Засейте в пробирки 1,0 мл растворов, содержащих не более 1000 КОЕ/мл для всех микроорганизмов, за исключением *Clostridium novyi* A. В случае *C. novyi* A засейте в пробирки 1,0 мл растворов, содержащих от 1×10^5 до 1×10^8 КОЕ/мл. Приготовьте растворы, используя культуры штаммов *Staphylococcus* и *Streptococcus*, выдержанные в триптиказо-соевом бульоне **Trypticase** Soy Broth в течение 18 – 24 ч, и культуры остальных микроорганизмов, выдержанные в углеводном бульоне с измельченным мясом Chopped Meat Carbohydrate Broth PR II в течение 18 – 24 ч.
 - b. Инкубируйте неплотно закрытые пробирки при температуре 35 ± 2 °C в аэробной атмосфере (штаммы *Staphylococcus* и *Streptococcus*) и в анаэробной атмосфере, обогащенной диоксидом углерода, например в анаэробной системе **BD GasPak EZ** (строгие анаэробные микроорганизмы).
3. Проверьте пробирки через 7 дней на наличие роста.
4. Ожидаемые результаты

Микроорганизмы	ATCC	Выделение
<i>*Peptostreptococcus anaerobius</i>	27337	Рост
<i>Bacteroides fragilis</i>	25285	Рост
<i>*Clostridium novyi</i> A	7659	Рост
<i>*Staphylococcus aureus</i>	25923	Рост
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Рост

* Штамм микроорганизма, рекомендуемый для контроля качества.

III ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

1. Проверьте пробирки, как описано в разделе «Разложение продукта».
2. Визуально проверьте репрезентативные пробирки, чтобы убедиться в том, что существующие физические дефекты не будут препятствовать использованию.
3. Выдерживайте незасеянные репрезентативные пробирки при температуре от 20 до 25 °C и от 30 до 35 °C и проверьте на наличие бактериального загрязнения через 7 дней.

СВЕДЕНИЯ О ПРОДУКТЕ

IV НАЗНАЧЕНИЕ

Бульон Шедлера Schaedler Broth используется для культивирования требовательных к среде аэробных и анаэробных микроорганизмов.

V КРАТКИЙ ОБЗОР И ОПИСАНИЕ

Шедлер (Schaedler) и др.¹ разработали несколько рецептов сред для выращивания требовательных к среде анаэробных микроорганизмов, например лактобацилл, стрептококков, клостридий и *Bacteroides*. Мата (Mata) с соавторами² изменили среду Шедлера, скорректировав содержание пептона, увеличив концентрацию хлорида натрия, снизив количество декстрозы и уменьшив уровень содержания дрожжевого экстракта.³ Формула бульона Шедлера Schaedler Broth совпадает с формулой агара Шедлера Schaedler Agar за исключением того, что агар в бульоне отсутствует.

VI ПРИНЦИПЫ МЕТОДИКИ

Данная среда является высокопитательной благодаря содержанию пептонов, декстрозы и дрожжевого экстракта. Гемин является источником X-фактора, необходимого большинству требовательных к среде микроорганизмов. Добавление витамина K₁ обеспечивает культивирование микроорганизмов *Prevotella melaninogenica* и стимулирует рост других видов *Bacteroides* и грамположительных неспорообразующих микроорганизмов.^{4,5} Тип микроорганизмов, выделяемых в этой жидкой среде, зависит от условий инкубации (аэробная атмосфера; аэробная атмосфера, обогащенная диоксидом углерода, или анаэробная атмосфера).

VII РЕАГЕНТЫ

Schaedler Broth with Vitamin K₁

Примерная рецептура* на литр очищенной воды

Панкреатический гидролизат казеина	8,2 г	Дикалийфосфат	0,8 г
Пептический гидролизат животной ткани	2,5 г	Л-цистин	0,4 г
Папаиновый гидролизат соевой муки	1,0 г	Гемин	0,01 г
Декстроза	5,8 г	Витамин K ₁	0,01 г
Дрожжевой экстракт	5,0 г	ТРИС (гидроксиметил-аминометан)	3,0 г
Натрия хлорид	1,7 г		

* При необходимости изменяется и/или дополняется для соответствия критериям эффективности.

Предупреждения и меры предосторожности. Для диагностики *in vitro*.

Пробирки с плотными крышками следует открывать осторожно, чтобы не разбить пробирку и не пораниться осколками.

В клинических образцах могут присутствовать патогенные микроорганизмы, в том числе вирус гепатита и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). При работе с любыми предметами, загрязненными кровью и другими биологическими жидкостями, соблюдайте правила, принятые в учреждении, а также стандартные меры предосторожности.⁸⁻⁹ После использования перед утилизацией стерилизуйте в автоклаве подготовленные пробирки, контейнеры для образцов и другие загрязненные материалы.

Условия хранения. После получения храните пробирки в темноте при температуре от 2 до 8 °C. Избегайте замораживания и перегрева. Открывайте непосредственно перед использованием. Сведите к минимуму воздействие света. Среда, хранящаяся в пробирках в соответствии с указаниями на этикетке, может быть засеяна до истечения срока годности и выдержана в течение рекомендуемого инкубационного периода. Перед посевом дайте среде нагреться до комнатной температуры.

Разложение продукта. При наличии признаков бактериального загрязнения, изменения цвета, высыхания или других признаков разложения продукта не используйте пробирки.

VIII ВЗЯТИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

Подходящие для культивирования образцы можно обрабатывать, используя различные методики. Подробную информацию см. в соответствующих документах.^{10,11} Образцы следует собирать до введения противомикробных средств. Необходимо обеспечить своевременную доставку в лабораторию.

IX МЕТОДИКА

Поставляемые материалы. Schaedler Broth with Vitamin K₁

Необходимые, но не поставляемые материалы. Требуется дополнительная питательная среда, реагенты, культуры микроорганизмов для контроля качества и лабораторное оборудование.

Методика тестирования. Соблюдайте асептическую методику работы.

Посейте образец непосредственно в бульонную среду.

Жидкую среду для анаэробной инкубации следует восстановить перед посевом, поместив неплотно закрытые пробирки в анаэробную атмосферу (анаэробную систему **BD GasPak EZ** или аналогичную) на 18 – 24 ч. Жидкие среды можно также восстанавливать непосредственно перед использованием посредством кипячения* с неплотно закрытыми крышками и охлаждения до комнатной температуры с плотно закрытыми крышками перед посевом.

Инкубируйте пробирки и/или флаконы при температуре 35 ± 2 °C в соответствующей атмосфере (аэробной, анаэробной или обогащенной диоксидом углерода) до 7 дней.

***ПРИМЕЧАНИЕ.** Не рекомендуется использовать микроволновую печь.

Контроль качества. См. раздел «Методики контроля качества».

Следуйте требованиям контроля качества в соответствии с применимым местным, региональным и/или федеральным законодательством, требованиями аккредитации и методиками контроля качества, принятыми в лаборатории. Для получения информации о надлежащих методиках контроля качества пользователям рекомендуется ознакомиться с документацией Института клинических и лабораторных стандартов США (CLSI, ранее NCCLS) и положениями Закона о совершенствовании работы клинических лабораторий (CLIA).

X РЕЗУЛЬТАТЫ

Рост в пробирках проявляется как помутнение по сравнению с незасеянной контрольной пробиркой.

При видимом наличии роста культуры необходимо проверить с помощью окрашивания по Граму и выполнить их пересев в соответствующую среду (например, в чашку с агаром TSA II и/или шоколадным агаром II, агаром LEMB или Макконки II и т. п.). При подозрениях на наличие строгих анаэробных микроорганизмов субкультуры необходимо инкубировать в анаэробной атмосфере (анаэробная система **BD GasPak EZ**).

XI ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

Для идентификации должны использоваться микроорганизмы чистой культуры. Для окончательной идентификации необходимо выполнять морфологические, биохимические и (или) серологические тесты. Дополнительную информацию и рекомендованные методики см. в соответствующих документах.¹⁰⁻¹²

Питательные среды иногда содержат погибшие микроорганизмы, принесенные вместе с компонентами среды, которые могут быть видны на мазках питательной среды. К другим источникам погибших микроорганизмов, видимых при окрашивании по Граму, относятся реагенты для окрашивания, иммерсионное масло, предметные стекла и образцы, используемые для засеивания. В случае неопределенности относительно достоверности результатов окрашивания по Граму культуру следует повторно инкубировать в течение одного или двух часов и повторить тест после получения отчета.

XII ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Стейлонс (Stalons) и др.¹³ отзываются о бульоне Шедлера Schaedler Broth как о самой эффективной из девяти бульонных сред, проверенных на выращивание строгих анаэробных бактерий при инкубации в анаэробной атмосфере.

XIII НАЛИЧИЕ

№ по каталогу	Описание
221541	BD BBL Schaedler Broth with Vitamin K ₁ , 10 пробирок размера К в упаковке
221542	BD BBL Schaedler Broth with Vitamin K ₁ , 100 пробирок размера К в коробке

XIV СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

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.

Служба технической поддержки BD Diagnostics: обращайтесь к местному представителю компании BD или на сайт 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