



BBL Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood
BBL Brain Heart Infusion Agar with 10% Sheep Blood,
Chloramphenicol and Gentamicin
BBL Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin

8806371 • Ред. 03 • апрель 2015

МЕТОДИКИ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

I ВВЕДЕНИЕ

Данные среды используются в качественных методиках для изоляции и культивирования патогенных и непатогенных грибов в клинических и неклинических образцах.

II МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ТЕСТИРОВАНИЯ

- Засейте репрезентативные образцы перечисленными далее культурами.
 - При исследовании на *C. albicans*, *E. coli* и *S. aureus* засейте штрихами 1 мкл (0,001 мл) культуры из триптиказо-соевого бульона **Trypticase Soy Broth**, выдержанного в течение 4–5 ч и разбавленного до содержания 10^6 – 10^7 КОЕ/мл.
 - Для остальных микроорганизмов засейте непосредственно из исходной чашки, используя свежую грибковую культуру (возрастом до одного месяца).
 - Для контроля всех микроорганизмов используйте скошенный декстрозный агар Сабуро.
- Инкубируйте все пробирки при температуре от 20 до 25 °С.
- Проверяйте с интервалами до 7 дней на интенсивность роста, цвет колонии и селективность.
- Ожидаемые результаты

Среда	Микроорганизмы	ATCC	Выделение	Окраска колонии
Агар с овечьей кровью (BHI Sheep Blood Agar)	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	56218	Рост от умеренного до обильного	От белого до кремового или желтовато-коричневого
	* <i>Candida albicans</i>	60193	Рост от умеренного до обильного	От белого до кремового
	* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Рост от умеренного до обильного	От белого до кремового или желтого
Агар с овечьей кровью, хлорамфениколом и гентамицином (BHI Sheep Blood Agar with Chloramphenicol and Gentamicin)	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	56218	Рост от умеренного до обильного	От белого до кремового или желтовато-коричневого
	* <i>Candida albicans</i>	10231	Рост от умеренного до обильного	От белого до кремового
	* <i>Escherichia coli</i>	25922	Ингибируются	НП
	* <i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Ингибируются	НП
	* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Рост от умеренного до обильного	От белого до кремового или желтого
Агар с сердечно-мозговым экстрактом, овечьей кровью и гентамицином (Brain Heart CC Sheep Blood Agar with Gentamicin)	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Ингибируются	НП
	* <i>Blastomyces dermatitidis</i>	56218	Рост от умеренного до обильного	НП
	* <i>Candida albicans</i>	10231	Рост от умеренного до обильного	От белого до кремового, вязкие
	* <i>Escherichia coli</i>	25922	Ингибируются	НП
	* <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Рост от умеренного до обильного	От белого до кремового, густые

*Штамм микроорганизма, рекомендуемый для контроля качества.

III ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

- Проверьте пробирки, как описано в разделе «Разложение продукта».
- Визуально проверьте репрезентативные пробирки, чтобы убедиться в том, что существующие физические дефекты не будут препятствовать использованию.
- Для агара с сердечно-мозговым экстрактом, овечьей кровью и гентамицином Brain Heart CC Sheep Blood Agar with Gentamicin определите уровень pH потенциометрическим способом при комнатной температуре, чтобы убедиться в соответствии характеристикам $7,4 \pm 0,2$.
- Выдержите незасеянные репрезентативные пробирки при температуре от 33 до 37 °С и от 20 до 25 °С в течение 72 часов, после чего проверьте их на наличие бактериального загрязнения.

СВЕДЕНИЯ О ПРОДУКТЕ

IV НАЗНАЧЕНИЕ

Данные среды используются в качественных методиках для изоляции и культивирования патогенных и непатогенных грибов в клинических и неклинических образцах.

V КРАТКИЙ ОБЗОР И ОПИСАНИЕ

Агар с сердечно-мозговым экстрактом Brain Heart Infusion (BHI) Agar — это среда общего назначения, подходящая для первичного выделения грибов.¹ Для улучшения выделения патогенных диморфных грибов рекомендуется добавлять овечью кровь.¹

Для улучшения выделения патогенных грибов из образцов с тяжелым заражением бактериями и сапрофитными грибами вводятся противомикробные препараты, включая хлорамфеникол, хлорамфеникол в сочетании с циклогексимидом (СС) и гентамицин.¹

VI ПРИНЦИПЫ МЕТОДИКИ

Агар BHI Agar состоит из мозгового экстракта, пептонов ткани сердца и декстрозы, являющихся источниками питательных веществ, необходимых для роста грибов. Дефибринированная овечья кровь является источником дополнительных питательных веществ для поддержания изоляции и культивирования диморфных микроорганизмов. Добавление противомикробных препаратов в агар BHI Agar улучшает выделение патогенных грибов из клинических образцов благодаря подавлению бактерий. Гентамицин подавляет грамотрицательные бактерии. Хлорамфеникол является антибиотиком широкого спектра действия, подавляющим как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии. Циклогексимид — это противогрибковый препарат, действующий в первую очередь против сапрофитных грибов и не замедляющий рост дрожжей или дерматофитов.

VII РЕАГЕНТЫ

BHI Agar

Примерная рецептура* на литр очищенной воды

Сердечно-мозговой экстракт, сухой экстракт	8,0 г
Пептический гидролизат животной ткани	5,0 г
Панкреатический гидролизат казеина	16,0 г
Декстроза	2,0 г
Натрия хлорид	5,0 г
Динатрия фосфат	2,5 г
Агар	13,5 г

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

Агар с овечьей кровью (**BHI Sheep Blood Agar**) состоит из указанных ингредиентов с добавлением дефибринированной овечьей крови (5 %).

Агар BHI с овечьей кровью, хлорамфениколом и гентамицином (**BHI Sheep Blood Agar with Chloramphenicol and Gentamicin**) состоит из агара BHI Agar с добавлением хлорамфеникола (0,05 г/л), гентамицина (0,05 г/л) и дефибринированной овечьей крови (10 %).

Агар с сердечно-мозговым экстрактом, овечьей кровью и гентамицином (**Brain Heart CC Sheep Blood Agar with Gentamicin**) состоит из агара BHI Agar с добавлением хлорамфеникола (0,05 г/л), циклогексимидом (0,5 г/л), гентамицина (0,05 г/л) и дефибринированной овечьей крови (10 %).

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.²⁻⁵ Перед утилизацией простерилизуйте контейнеры для образцов и другие инфицированные материалы автоклавированием.

Условия хранения. После получения храните пробирки в темноте в соответствии с указаниями на этикетке. 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 инкубационного периода до 6 недель. Перед посевом дайте среде нагреться до комнатной температуры.

Разложение продукта. При наличии очевидного бактериального загрязнения, обесцвечивания, появления осадка, испарения или других признаков разложения продукта не используйте пробирки.

VIII ВЗЯТИЕ И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

Дополнительную информацию о методиках сбора и обработки образцов см. в соответствующих документах.^{1,6-8}

IX МЕТОДИКА

Поставляемые материалы. Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood, Brain Heart Infusion Agar with 10% Sheep Blood, Chloramphenicol and Gentamicin или Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin

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

Методика тестирования. Соблюдайте асептическую методику работы.

Засейте среду сразу же после поступления образцов в лабораторию. Засейте образец в среду стерильной микробиологической петлей для получения изолированных колоний. Информацию об обработке и посевах таких образцов, как ткани, кожные соскобы, волосы, ногти и т. п., см. в соответствующих справочных материалах.^{1,6-9}

Для изоляции грибов, вызывающих грибковые болезни кожи, вместе с селективной средой следует засеивать неселективную среду общего назначения. Засейте один набор пробирок при температуре от 25 до 30 °С, а второй — при температуре от 35 до 37 °С. Осматривайте все культуры на наличие роста по крайней мере раз в неделю и выдерживайте культуры в течение 4–6 недель, прежде чем заносить их в отчет как отрицательные.

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. Пользователи должны сверяться с соответствующими руководствами Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам США (CLSI) и положениями Закона о совершенствовании работы клинических лабораторий (CLIA).

X РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследуйте среду на наличие роста грибковых микроорганизмов, обращая внимание на цвет и морфологию.

XI ОГРАНИЧЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИКИ

Для идентификации микроорганизмов должен использоваться микроорганизм чистой культуры. Для окончательной идентификации необходимо выполнять морфологические, биохимические и (или) серологические тесты, а также тесты питательности. Дополнительную информацию и рекомендованные методики см. в соответствующих документах.⁶⁻¹¹

Посев образца в одну среду редко позволяет обнаружить все потенциально значимые микроорганизмы. Агенты селективной среды могут подавлять некоторые штаммы исследуемого вида или неэффективно действовать на рост видов, которые должны ингибироваться, особенно если в образце содержится большое количество микроорганизмов этих видов. Поэтому образцы, культивированные на селективной среде, необходимо также культивировать на неселективной среде для получения дополнительной информации и повышения вероятности выделения потенциальных патогенов.

XII ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood

Перед выпуском все серии агара с сердечно-мозговым экстрактом и 5 % овечьей крови (Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood) проходят тестирование на определенные характеристики продукта. Выборки серии тестируются с использованием культур *Blastomyces dermatitidis* ATCC 56218, *Candida albicans* ATCC 60193 и *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, засеиваемых непосредственно штрихами на поверхность среды. Пробирки с неплотно закрытыми крышками выдерживаются при температуре от 20 до 27 °C до 7 дней. Все культуры микроорганизмов проявляют рост от умеренного до обильного.

Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin

Перед выпуском все серии агара CC с сердечно-мозговым экстрактом, 10 % овечьей крови и гентамицином (Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin) проходят тестирование на определенные характеристики продукта. Выборки серии тестируются с использованием культур *Blastomyces dermatitidis* ATCC 56218, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533, засеиваемых непосредственно штрихами на поверхность среды (для *C. albicans* и *E. coli* используются суспензии в физиологическом растворе с содержанием от 10³ до 10⁴ КОЕ). Пробирки с неплотно закрытыми крышками выдерживаются при температуре от 20 до 27 °C до 7 дней. *B. dermatitidis*, *C. albicans* and *T. mentagrophytes* проявляют рост от умеренного до обильного. Для *E. coli* наблюдается ингибирование от частичного до полного.

XIII НАЛИЧИЕ

№ по каталогу Описание

297199	BD BBL Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood Slants, 10 пробирок размера А в упаковке CE
296067	BD BBL Brain Heart Infusion Agar with 5% Sheep Blood Slants, 100 пробирок размера А в упаковке
295756	BD BBL Brain Heart Infusion Agar with 10% Sheep Blood, Chloramphenicol and Gentamicin Slants, 100 пробирок размера А в упаковке
296358	BD BBL Brain Heart CC Agar with 10% Sheep Blood and Gentamicin Slants, 10 пробирок размера А в упаковке

XIV СПРАВОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

1. Merz, W.G., and G.D. Roberts. 1995. Detection and recovery of fungi from clinical specimens, p. 709-721. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
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. Haley, L.D., H. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. *Cumitech 11*, Practical methods for culture and identification of fungi in the clinical mycology laboratory. Coordinating ed., J.C. Sherris. 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. Kwon-Chung, K.J., and J.E. Bennett. 1992. *Medical mycology*. Lea & Febiger, Philadelphia.
9. R.C. and J. Kane. 1999. *Trichophyton, Microsporium, Epidermophyton*, and agents of superficial mycoses, p.1275-1294. *In* P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Larone, D.H. 1987. *Medically important fungi: a guide to identification*, 2nd ed. Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York.
11. Koneman, E.W., S.D. Allen, W.M. Janda, P.C. Schreckenberger, and W.C. Winn, Jr. 1997. *Mycology*, p. 983-1069. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*, 5th ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.

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