

СИСТЕМА SIGNAL® КОМПАНИИ OXOID ДЛЯ ГЕМОКУЛЬТИВИРОВАНИЯ

код: BC0100

Описание системы культуры крови **SIGNAL** компании Oxoid, принципов ее работы и оборудования, необходимого для достижения наилучших результатов.



Принцип выполнения анализа

Забор крови у пациентов выполняется с соблюдением асептических условий и с применением стерильного оборудования. Посев производится в специальные бутылки и смешивается со средой.

Состав среды способствует росту аэробных, анаэробных и микроаэрофильных организмов. Особенности ее состава обеспечивают создание давления в закрытой бутылке в результате роста организмов.

Положительное давление определяется с помощью индикатора роста, присоединяемого к бутылке после добавления образцов крови. Под влиянием положительного давления часть кровяно-бульонной смеси «выдавливается» в камеру, что является признаком микробной активности.²³⁴

О положительном результате можно судить по поднятию уровня смеси выше зеленого запорного приспособления индикатора роста.

Компоненты продукта

	Кол-во в упаковке	Код заказа
Бутылки для культивирования крови в комплекте с Индикаторами роста	20 плюс 20	BC0100M
Подставки для инкубации	5	BC0104A

Состав среды

Обычный компонентный состав	мг/л
Триптонно-соевый бульон	10,0
Желатиновый пептон	10,0
Дрожжевой экстракт	5,0
Мясной экстракт	5,0
Поваренная соль	8,0
Нитрат калия	2,0
Глюкоза	1,0
L-аргинин	1,0
Пируват натрия	1,0
Желатин	1,0
Тиогликоль натрия	0,5
Цистеин HCl	0,4
Двууглекислая сода	0,4
Фосфатный буфер	0,3
Полианетол сульфат натрия (Sodium polyanethol sulphate)	0,3
Дитиотреитол	0,2

Аденин сульфат	0,01
Янтарнокислый натрий	0,01
Хлорид аммония	0,008
Сульфат магния	0,008
Витамин К (Menadione)	0,005
рН 7,0	

Полианетол сульфона натрия (SPS) добавляют в количестве 0,03% для предотвращения свертывания⁵, нейтрализации бактерицидного действия человеческой плазмы⁶, профилактики фагоцитоза⁷ и частичного подавления действия некоторых антибиотиков (стрептомицина, канамицина, гентамицина и полимиксина В)^{8,9}. SPS может оказывать ингибирующее действие на некоторые штаммы *Peptostreptococcus anaerobius*, *Neisseria meningitidis* и *Neisseria gonorrhoeae*, поэтому для компенсации подавляющего действия в среде присутствует желатин.^{10,11} После добавления к среде человеческой крови, в зоне горлышка бутылки⁴ можно обнаружить образующийся CO₂ в количестве от 2,5 до 5% v/v.

Необходимые материалы, не входящие в комплект

1. Стерильный шприц или другие системы для забора крови.
2. Спиртовые растворы или другие материалы для дезинфекции кожи.
3. Среда для культуры и другое оборудование для субкультур.
4. Оборудование для инкубирования с поддержанием $36 \pm 1^\circ\text{C}$.
5. Орбитальный встряхиватель (для получения лучшего результата)

Методика применения (более подробное описание приводится в сопутствующем листке-вкладыше)

А. Выполнение посева

1. Перед переносом образца крови осмотреть бутылку с бульоном, не использовать при визуальном обнаружении любых признаков заражения.
2. Подготовить бутылку для посева перед переносом крови. Снять зеленый пластиковый колпачок и продезинфицировать открытую часть резиновой пробки.
3. С соблюдением стерильности добавить максимальное количество крови (**до 10 мл**) через центральное кольцо резиновой пробки. (Частичный вакуум в бутылке позволяет принять 12 мл крови.)
4. Тщательно перемешать кровь и бульон в бутылке.
5. Указать имя и данные пациента на этикетке бутылки.
6. Немедленно отправить бутылку с посевом крови в лабораторию. Если лаборатория закрыта или нет возможности организовать немедленную транспортировку, бутылку следует инкубировать при $36 \pm 1^\circ\text{C}$, выполнив описанные ниже лабораторные процедуры при первой возможности (в течение 24 часов).

В. Лабораторные процедуры

1. Поместить бутылку с посевом **в инкубатор при $36 \pm 1^\circ\text{C}$ приблизительно на 1 час.**
2. Извлечь из инкубатора и поместить на подставку для инкубации.
3. Проздезинфицировать резиновую пробку бутылки, протерев ее, например, спиртовым ватным тампоном.
4. Достать из стерильной упаковки индикатор роста и удостовериться, что игла и колпачок полностью затянуты. (Держать устройство за чистый пластиковый корпус закрытой иглой вниз. Затянуть иглу, повернув ее защитный колпачок против часовой стрелки. Затянуть колпачок, повернув его по часовой стрелке.)
5. Снять с иглы пластиковый предохранитель. **Не прикасаться к игле.**
6. С соблюдением стерильности ввести иглу в центр резиновой пробки. Протолкнуть иглу через резиновую пробку на полную длину.
7. Передвигать зеленое запорное приспособление индикатора роста вниз, пока оно полностью не перекроет горлышко бутылки с культурой крови. Нажать на камеру для обеспечения полного контакта с резиновой пробкой.
8. Для достижения наилучшего результата, с помощью шейкера, установленного в инкубаторе, встряхивать систему в течение 24 часов при 150 оборотах/минуту; можно использовать встроенный в стол шейкер/инкубатор при $36 \pm 1^\circ\text{C}$. (Если использование шейкера в первые 24 часа невозможно, систему следует встряхивать в течение этого периода вручную, как можно чаще (не менее 4 раз)).
9. Осмотр системы на выявление положительного результата следует выполнять не менее двух раз в день.

10. По прошествии 24 часов извлечь систему из встряхивателя и поставить на полку инкубатора, установленного на $36 \pm 1^\circ\text{C}$.

11. Дважды в день производить осмотр системы в инкубаторе и, при обнаружении положительного результата, отправить на дальнейшее исследование. Энергично встряхнуть отрицательные системы, чтобы взвесить эритроциты в бульоне, после чего вернуть систему на полку инкубатора. Рекомендуемая общая длительность инкубации не менее 7 дней, после чего образуется конечная субкультура.

12. ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ - перемешать содержимое камеры, отвинтить зеленый колпачок и, не нарушая стерильности, взять образец кровяно-бульонной смеси для исследования субкультуры, микроскопии и восприимчивости. Отверстие в колпачке содержит гидрофобную мембрану на 0,2 микрона, обеспечивающую отсутствие давления в камере. После отбора пробы вернуть колпачок на место.

Положительная культура крови, демонстрирующая рост микроорганизмов, определяется внешним видом кровяно-бульонной смеси в прозрачном индикаторе роста выше запорного приспособления.

Рекомендуется также проводить визуальные осмотры на наличие лизиса, помутнения или появления колоний на границе кровяного слоя, так как эти признаки могут стать заметными до поднятия смеси выше уровня запорного устройства.



Обеспечение качества

Компания Oxoid использует перечисленные ниже организмы как часть системы по обеспечению качества товара. Общая посевная нагрузка для каждого исследуемого организма на одну бутылку составляет от 10 до 50 колониобразующих единиц (КОЕ).

	Номер ATCC®	Номер NCTC
<i>Bacillus cereus</i>	10876	7464
<i>Bacteroides fragilis</i>	25285	9343
<i>Clostridium novyi</i>	27606	
<i>Clostridium perfringens</i>	13124	
<i>Escherichia coli</i>	25922	
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	10953	10562
<i>Haemophilus influenzae</i>	19418	4560
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	29665	11228
<i>Neisseria meningitidis</i>	13077	10025
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	27337	11460
<i>Prevotella bivia</i>	29303	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	14990	

<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6303	
<i>Streptococcus mutans</i>	25175	10449
<i>Candida albicans</i>	10231	(NCPF 3179)

Обеспечение качества при использовании в лаборатории

1 Перед добавлением крови проводить осмотр бутылей с бульоном с целью выявления помутнений и/или изменения цвета. Не использовать подозрительные бутыли.

2 При необходимости выполнения последующего контроля качества в лаборатории, рекомендуется использовать аэробы 3 и анаэробы 1 из приведенного выше списка.

Литература:

1. Finegold S. M. and Martin W. J. (1982) *Diagnostic Microbiology 6th Edn. Published C. V Mosby Co. St Louis.* p.42.
2. Hinder S. M., Sawhney D. and Swaine D. *2nd European Congress of Clinical Microbiology 1985, Abstract 12/2.*
3. King A., Bone G. and Phillips I. *2nd European Congress of Clinical Microbiology 1985, Abstract 12/4.*
4. King A., Bone G. and Phillips I. (1986) *J. Clin. Pathol.* 39. 661-665.
5. Sawhney D., Hinder S., Swaine D. and Bridson E. Y. (1986) *J. Clin. Pathol.* 39. 1259-1263.
6. Van Haebler T. and Miles A. A. (1938) *J. Path. Bact.* 46. 245-252.
7. Lowrance B. L. and Traub W. H. (1969) *Appl. Microbiol.* 17. 839-842.
8. Rosner R. (1972) *Amer. J. Clin. Path.* 57. 220-227.
9. Traub W. H. (1969) *Experientia* 25. 206-207.
10. Traub W. H. and Lowrance B. L. (1969) *Experientia* 24. 1184-1185.
11. Eng J. and Holten E. (1977) *J. Clin. Microbiol.* 6. 1-3.