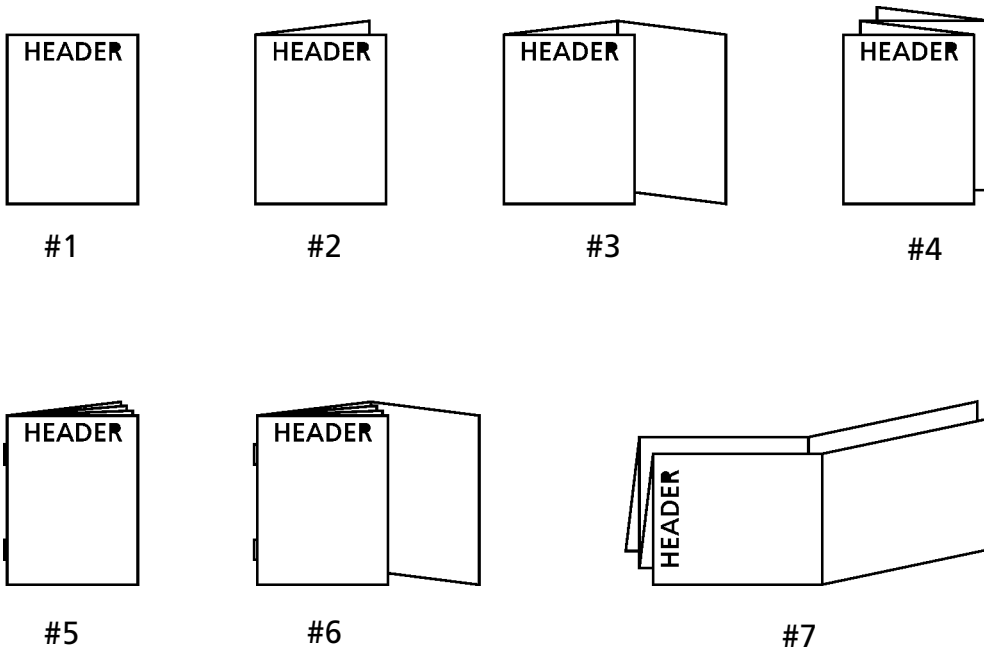


Revisions

Rev from	Rev to	ECO #
0505	2010/06	5368-10

Notes:

1. BD Cat. Number Varies
2. Blank (Sheet) Size : Length: 13.75" Width: 26.875"
 Number of Pages: 10 Number of Sheets: 1
 Page Size: Length 13.75" Width 5.375" Final Folded Size: 1.25" x 5.375"
3. Style (see illustrations below): # 4



4. See Specification Control Number N/A for Material Information
5. Ink Colors: Printed two sides Yes No
 No. of Colors: 1 PMS# Black
6. Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level.

VS Controlled by Caribe, LTD

Label Design	Date	COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION	Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number: L000156		Category and Description Package Insert, BBL Taxo Haemophilus	Sheet: 1 of 11 Scale: N/A	A

BD BBL™ Taxo™ Differentiation Discs for *Haemophilus* Species

BBL™ Taxo™ Differentiation Discs V, BBL™ Taxo™ Differentiation Discs X, BBL™ Taxo™ Differentiation Discs VX

English: pages 1 – 2 Italiano: pagine 5 – 6
 Français : pages 2 – 3 Español: páginas 6 – 8
 Deutsch: Seiten 4 – 5

CE L000156
 2010/06

Pokyny vám poskytnú miestni zástupce spoločnosti BD. / Kontakt den lokale BD repræsentant for at få instruktioner. / Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga. / Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες. / A használati utasítást kérje a BD helyi képviselétől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielstwem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instrukcije ziskate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Vecton Dickinson-representant för anvisningar. / Свържете се с местния представител на BD за инструкции. / Contactați reprezentantul dumneavoastră local BD pentru instrucțiuni. / Talimatlar için yerel BD temsilcilerinize danışın. / Obratite se svom lokalnom predstavniku kompanije BD za uputstva. / Для получения инструкций свяжитесь с местным представителем компании BD. / Өзгiңдiң жергiлiктi БД өкiлiне жүгiнiп нускау алыңыз. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute.

INTENDED USE

BBL™ Taxo™ Differentiation Discs are used for presumptively differentiating *Haemophilus* spp. based on their requirements for X or V factors or both.

SUMMARY AND EXPLANATION

Haemophilus spp. are part of the normal respiratory flora of humans and many animal species. *Haemophilus influenzae* may be an opportunistic secondary invader, usually following a viral infection. This organism can cause a variety of diseases from chronic respiratory infections to meningitis. *Haemophilus parainfluenzae* is rarely implicated in pathological processes. In culture, these two organisms are morphologically and colonially similar, making differentiation difficult. Their differing requirements for growth factors are used for differentiating these species.

Davis¹ and Thjotta and Avery² recognized that the type species *H. influenzae* required two growth factors, one from blood that they called X factor and another that they called V factor. The X factor has been identified as iron protoporphyrin. Hemin is used as a source of this factor. Lwoff and Lwoff³ prepared V factor from baker's yeast. V factor is nicotinic adenine dinucleotide (NAD). These exacting growth requirements aid in differentiation and species identification.

Chocolate agar, horse blood agar and rabbit blood agar all contain both growth factors and support the growth of most *Haemophilus* spp. BBL Hemoglobin provides the X factor, while Supplement B or C or VX will provide the V factor. BBL Fildes Enrichment, employed in culture media in a 5% concentration, is also a source of both X and V factors. The *Staphylococcus* satellite method may also be used for isolating *Haemophilus*. *S. aureus* provides the V factor, and when streaked on sheep blood agar, will enhance the growth of *Haemophilus* around the *Staphylococcus* streak. This method is also used for species identification and differentiation.

Parker and Heoprich⁴ prepared discs containing the X and V factors and used them to differentiate *H. influenzae*, which requires X and V factors, from *H. parainfluenzae*, which requires only V factor for growth. Cultures were inoculated on Heart Infusion Agar, Tryptic Soy Agar or Nutrient Agar. Russell⁵ used discs impregnated with X and V factors to identify organisms belonging to the genus *Haemophilus* based on their requirements for these factors and reported the suitability of this procedure.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

Haemophilus spp. vary in their requirements for the growth factors V and X. This variation is useful in isolating and differentiating these species. The presence or absence of growth around and/or between discs impregnated with factors V, X and VX is evaluated to determine the species of the organism.

REAGENTS

BBL Taxo Differentiation Discs V, X and VX are paper discs impregnated with the substances listed and imprinted with the appropriate code.

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use.

Follow established laboratory procedures in handling and disposing of infectious materials.

Storage Instructions: Store BBL Taxo Differentiation Discs V, X and VX at 2 – 8°C.

Disc Code	Disc Content	Disc Size
V	NAD	1/4"
X	Hemin	1/4"
VX	NAD and hemin	1/4"

The expiration date applies to the product in its intact container when stored as directed.

Product Deterioration: Do not use a product if it fails to meet specifications for identity and performance.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- Specimens for the isolation of *Haemophilus* spp. may be obtained from the throat, nasopharynx, conjunctiva, blood, or spinal fluid.
- Primary specimens should be prepared for differentiation by inoculation onto chocolate agar. Alternatively, blood agar may be used with a staphylococcal cross streak.
- Cultures obtained from an enriched medium should be diluted 1:100 in Tryptic Soy Broth to prevent carryover of growth factors from the medium.
- Uniformly distribute organisms over the entire surface of Heart Infusion Agar or Tryptic Soy Agar. Only pure cultures should be used for differentiation of *Haemophilus* spp.

PROCEDURE

Material Provided: BBL Taxo Differentiation Discs V, X or VX.

Materials Required But Not Provided: Forceps, CO₂ incubator (35 ± 2°C), swabs, inoculating loop, Bunsen burner or incinerator, quality control organisms, Tryptic Soy Agar or Heart Infusion Agar and Tryptic Soy Broth.

Test Procedure:

- Using aseptic technique, place the desired discs on the inoculated agar according to one of the following methods. Press gently.

Two disc method: Place BBL Taxo Differentiation Discs V and X approximately 3 – 5 mm apart (Fig. 1).

Three disc method: Place BBL Taxo Differentiation Discs V, X and VX in the form of an equilateral triangle with at least 30 – 35 mm between discs (Fig. 2).

- Incubate at 35 ± 2°C in a 5 – 10% CO₂ atmosphere for 18 – 24 h.
- Examine the pattern of growth around and/or between the discs.

User Quality Control:

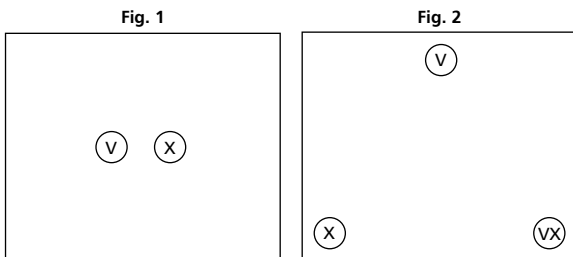
Identity Specifications –

BBL Taxo Differentiation Discs V – Round, white 1/4" paper discs with "V" printed on both sides.

BBL Taxo Differentiation Discs X – Round, brown 1/4" paper discs with "X" printed on both sides.

BBL Taxo Differentiation Discs VX – Round, light tan 1/4" paper discs with "VX" printed on both sides.

Cultural Response – V, X, VX: Inoculate BBL Heart Infusion Agar plates with a dilution of test organisms approximating a McFarland standard 0.5. Place BBL Taxo Differentiation Discs V, BBL Taxo Differentiation Discs X, and BBL Taxo Differentiation Discs VX on the surface of the plates as described under "Test Procedure." Incubate plates under CO₂ at 35 ± 2°C for 18 – 24 h.



Organism	ATCC™	Growth Stimulation		
		V	X	VX
<i>Haemophilus influenzae</i> biogroup <i>aegyptius</i>	11116	–	–	+
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	10014	+	–	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	7901	+	–	+

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent NCCLS guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

RESULTS

Two Disc Method: Growth around only one disc indicates a requirement for only that factor. Growth between the two discs indicates that both V and X factors are required.

Three Disc Method: Growth around the V and VX discs or the X and VX discs indicates a requirement for the single growth factor V or X, respectively. Growth around only the VX disc indicates a requirement for both factors.

Interpret the species of *Haemophilus* according to the growth factor requirements listed below.

Results other than those listed in the table may suggest one or both of the following:

- Improper dilution of cultures taken from enriched media. An inoculum that is too dilute may yield no growth. One that has been under-diluted may contain sufficient growth factors to affect growth over the entire plate or in areas around one or more inappropriate discs on the plate.
- Mixed cultures may result in growth around the discs.

Only presumptive identification of the *Haemophilus* species is possible using **BBL Taxo** Differentiation Discs. Determination of hemolysis and characteristics other than hemolysis may be required for confirmation of a presumptive identification. Biochemical and serological testing may also be used for species identification. Consult appropriate references for further identification of *Haemophilus* spp.^{6,7}

<i>Haemophilus</i> Species	Growth Requirements	
	X	V
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	-	-
<i>Haemophilus ducreyi</i>	+	-
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	+	+
<i>Haemophilus influenzae</i>	+	+
<i>Haemophilus influenzae</i> biogroup <i>aegyptius</i>	+	+
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	-	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	-	+
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	-	+
<i>Haemophilus segnis</i>	-	+

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Differentiation of *Haemophilus* species using the above procedures is presumptive in that growth factor requirements are identified. However, similarities in these requirements exist between species. Additional biochemical and serological tests should be performed for complete identification.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

In a study by Parker and Hoepflich, 255 nasopharyngeal and 1,317 throat swabs were examined for the presences of *Haemophilus*-like species using X and V factor disks. From the nasopharyngeal swabs, 59 *H. influenzae* were identified (growth only between the X and V disks) and 12 *H. parainfluenzae* were identified (growth only around the V disk). From the 1,317 throat swabs, 129 *H. influenzae* were identified and 302 were identified as *H. parainfluenzae*.⁴

AVAILABILITY

Cat. No.	Description	Cat. No.	Description
231727	BBL™ Taxo™ Differentiation Discs V, 50 discs/cartridge.	231730	BBL™ Taxo™ Differentiation Discs X, 10 x 50 discs.
231728	BBL™ Taxo™ Differentiation Discs V, 10 x 50 discs.	231731	BBL™ Taxo™ Differentiation Discs VX, 50 discs/cartridge.
231729	BBL™ Taxo™ Differentiation Discs X, 50 discs/cartridge.	231732	BBL™ Taxo™ Differentiation Discs VX, 10 x 50 discs.

REFERENCES

- Davis, J.D. 1917. Food accessory factors (vitamins) in bacterial culture with especial reference to hemophilic bacilli. *J. Infect. Dis.* 21: 392-403.
- Thjotta, T., and O.T. Avery. 1921. Studies on bacterial nutrition. II. Growth accessory substances in the cultivation of hemophilic bacilli. *J. Exper. Med.* 34: 97-114.
- Lwoff, A., and M. Lwoff. 1937. Studies on codehydrogenases. I. Nature of growth factor "V." *Proc. Roy. Soc. London. Ser. B.* 722: 352-359.
- Parker, R.H., and P.D. Hoepflich. 1962. Disk method for rapid identification of *Haemophilus* species. *Am. J. Clin. Pathol.* 37: 319-327.
- Russell, J.P. 1965. The identification of gram-negative pleomorphic bacilli. *Am. J. Clin. Pathol.* 44: 88-93.
- Campos, J.M. 1995. *Haemophilus*, p. 556-566. 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.
- Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.

BD Disques de différenciation BBL Taxo pour espèces d'Haemophilus

Français

Disques V de différenciation **BBL Taxo**
 Disques X de différenciation **BBL Taxo**
 Disques VX de différenciation **BBL Taxo**

APPLICATION

Les disques de différenciation **BBL Taxo** servent à différencier de façon présumée les espèces d'*Haemophilus* sur la base de leurs besoins en facteurs X ou V ou simultanés.

RESUME ET EXPLICATION

Les espèces d' *Haemophilus* font partie de la flore respiratoire normale des êtres-humains et de nombreux animaux. *Haemophilus influenzae* peut être un pathogène opportuniste secondaire, généralement à la suite d'une infection virale. Cet organisme peut causer toute une gamme de maladies allant des infections respiratoires chroniques à la méningite. *Haemophilus parainfluenzae* est rarement impliqué dans les processus pathologiques. En culture, ces deux organismes sont morphologiquement similaires et donnent des colonies similaires d'où la difficulté de les différencier. Leurs besoins différents en matière de facteurs de croissance sont utilisés pour les distinguer.

Davis¹ Thjotta et Avery² reconnaissent que l'espèce type *H. influenzae* requiert deux facteurs de croissance, l'un sanguin qu'ils appellent le facteur X et l'autre qu'ils appellent le facteur V. Le facteur X a été identifié comme la protoporphyrine de fer. L'hémine sert de source pour ce facteur. Lwoff et Lwoff³ ont préparé le facteur V à partir de levure de boulanger. Le facteur V correspond à la nicotinamide adénine dinucléotide (NAD). Ces exigences de croissance rigoureuses permettent de différencier et d'identifier les espèces.

La gélose-chocolat, la gélose au sang de cheval et celle au sang de lapin contiennent toutes des facteurs de croissance ce qui leur permet d'assurer le développement de la plupart des espèces d'*Haemophilus*. L'hémoglobine **BBL Taxo** fournit le facteur X, tandis que le supplément B ou C ou VX apportera le facteur V. Le supplément d'enrichissement **BBL Taxo** Fildes, ajouté au milieu de culture à une concentration de 5 %, constitue aussi une source des deux facteurs X et V. La méthode du staphylocoque satellite peut aussi servir à isoler *Haemophilus*. *S. aureus* fournit le facteur V et lorsqu'il est inoculé sur une gélose au sang de mouton, il améliore la croissance de *Haemophilus* autour des zones où il a été inoculé. Cette méthode sert aussi à l'identification et la différenciation des espèces.

Parker et Hoepflich⁴ ont préparé des disques contenant les facteurs X et V et les ont utilisés pour différencier *H. influenzae*, lequel requiert le facteur X et le facteur V, de *H. parainfluenzae* qui ne requiert que le facteur V pour croître. Les cultures ont été inoculées sur une gélose bouillon-coeur, une gélose trypticase soja ou une gélose bouillon nourricier. Russell⁵ a utilisé des disques imprégnés des facteurs X et V pour identifier les organismes appartenant au genre *Haemophilus* sur la base de leurs besoins en ces facteurs et a rapporté l'adéquation de cette méthode.

PRINCIPES DE LA METHODE

Les espèces d'*Haemophilus* diffèrent par leurs besoins en facteurs de croissance V et X. Cette variation permet d'isoler et de distinguer ces espèces. La présence ou l'absence de croissance autour et/ou entre les disques imprégnés des facteurs V, X et VX est évaluée afin de déterminer l'espèce de l'organisme considéré.

REACTIFS

Les disques V, X et VX de différenciation **BBL Taxo** sont des disques en papier imprégnés des substances énumérées ci-dessous et étiquetés du code approprié.

Avertissements et précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Appliquer les procédures de laboratoire en vigueur pour manipuler et jeter tout matériau infectieux.

Instructions de conservation : conserver les disques V, X et VX de différenciation **BBL Taxo** à 2 – 8 °C.

La date de péremption ne concerne que le produit conservé dans son emballage intact et comme prescrit.

Détérioration du produit : ne pas utiliser si le produit ne satisfait pas aux spécifications relatives à son identité et sa performance.

PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS ET PREPARATION

- Les échantillons pour l'isolement des espèces d'*Haemophilus* peuvent être prélevés dans la gorge, le rhinopharynx, la conjonctive, le sang ou le liquide rachidien.
- Les échantillons primaires doivent être préparés à des fins de différenciation par inoculation sur une gélose-chocolat. Sinon, une gélose au sang peut aussi être utilisée avec une inoculation transversale de staphylocoque.
- Les cultures obtenues sur milieu enrichi doivent être diluées au 1:100 dans un bouillon trypticase soja afin d'empêcher la contamination par des résidus de facteurs de croissance provenant du milieu.
- Distribuer les organismes uniformément sur la totalité de la surface de la gélose bouillon-coeur ou trypticase soja. Il faut seulement utiliser des cultures pures pour différencier les espèces d'*Haemophilus*.

METHODE

Matériel fourni : selon le produit commandé, un des disques de différenciation **BBL Taxo** indiqués sur la liste ci-dessus est fourni.

Matériels requis mais non-fourni : forceps, incubateur au CO₂ (35 ± 2 °C), écouvillons, anse à inoculation, bec Bunsen ou incinérateur, gélose trypticase soja ou gélose bouillon-coeur, bouillon trypticase soja.

Procédure de test :

- En utilisant une méthode aseptique, placer les disques V et X de différenciation **BBL Taxo** à environ 3 – 5 mm l'un de l'autre. (Fig. 1). Appuyer doucement.

Méthode des deux disques : placer les disques V et X de différenciation **BBL Taxo** à environ 3 – 5 mm l'un de l'autre. (Fig. 1)

Méthode des trois disques : placer les disques V, X et VX de différenciation **BBL Taxo** de façon à former un triangle équilatéral avec au moins 30 – 35 mm d'espace entre les disques. (Fig. 2)

- Incuber à 35 ± 2 °C sous une atmosphère à 5 – 10 % de CO₂ pendant 18 – 24 h.
- Examiner la croissance autour et/ou entre les disques.

Contrôle de qualité réalisé par l'utilisateur :

Spécifications relatives à l'identité

Disques V de différenciation BBL Taxo – disques en papier, ronds, blancs, 6 mm avec "V" inscrit des deux côtés.

Disques X de différenciation BBL Taxo – disques en papier, ronds, marron, 6 mm avec "X" inscrit des deux côtés.

Disques VX de différenciation BBL Taxo – disques en papier, ronds, légèrement teintés d'ocre, 6 mm avec "VX" inscrit des deux côtés.

Réponse en culture – V, X, VX : inoculer des boîtes de Pétri de gélose bouillon-coeur avec une dilution des organismes à tester proche du degré 0,5 de McFarland au Barium. Placer des disques V de différenciation **BBL Taxo**, des disques X de différenciation **BBL Taxo** et des disques VX de différenciation **BBL Taxo** à la surface des géloses en boîtes de Pétri comme décrit dans "Procédure de test". Incuber les boîtes de Pétri en atmosphère de CO₂ à 35 ± 2 °C pendant 18 – 24 h.

Effectuer les contrôles de qualité conformément à la réglementation nationale et/ou internationale, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives NCCLS et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

RESULTATS

Méthode des deux disques : une croissance autour d'un seul disque indique un besoin en ce seul facteur. Une croissance entre les deux disques signifie que les deux facteurs V et X sont requis.

Méthode des trois disques : une croissance autour des disques V et VX ou autour des disques X et VX signifie le besoin du seul facteur de croissance V ou du seul facteur de croissance X respectivement. Une croissance autour du seul disque VX indique un besoin des deux facteurs.

Identifier les espèces d'*Haemophilus* en fonction des besoins en facteur de croissance donnés ci-dessous.

Des résultats différents de ceux donnés dans le tableau peuvent indiquer l'un ou les deux faits suivants :

- Une dilution incorrecte des cultures prélevées sur le milieu enrichi. Un inoculum qui est trop dilué peut ne donner aucun développement. Un qui n'est pas assez dilué peut contenir suffisamment de facteurs de croissance résiduels pour gêner la croissance sur toute la boîte de Pétri ou autour d'un ou plusieurs disques inappropriés de la boîte de Pétri.
- Des cultures mélangées peuvent croître autour des disques.

Seulement une identification présumée des d'*Haemophilus* est possible à l'aide des disques de différenciation **BBL Taxo**. La détermination des propriétés d'hémolyse et autres que d'hémolyse peut être nécessaire pour la confirmation d'une identité présumée. Les essais biochimiques et sérologiques peuvent aussi servir à l'identification des espèces. Consulter les références adéquates pour plus de détail sur l'identification des espèces d'*Haemophilus*.^{6,7}

LIMITES DE LA METHODE

La différenciation des espèces d'*Haemophilus* au moyen des procédures précédemment décrites est présumée compte tenu du fait que les besoins en facteur de croissance sont identifiés. Toutefois il existe des besoins similaires d'une espèce à l'autre. Des essais biochimiques et sérologiques doivent être effectués pour réaliser l'identification complète.

CHARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

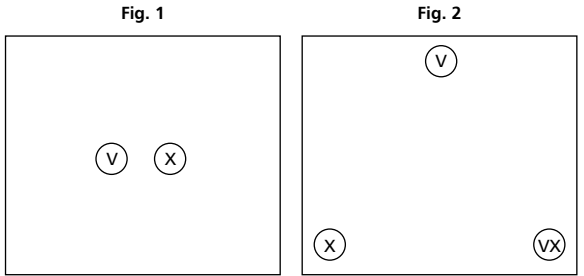
Lors d'une étude menée par Parker et Hoerprich, 255 écouvillonnages rhino-pharyngiens et 1 317 écouvillonnages de gorge ont été examinés à l'aide de disques imprégnés de facteurs X et V, afin de révéler la présence éventuelle d'espèces apparentées à *Haemophilus*. Parmi les écouvillonnages rhino-pharyngiens testés, 59 *H. influenzae* ont été identifiés (croissance uniquement entre les disques X et V) et 12 *H. parainfluenzae* ont été identifiés (croissance uniquement en périphérie du disque V). Parmi les 1 317 écouvillonnages de gorge, 129 *H. influenzae* ont été identifiés et 302 ont été identifiés en tant que *H. parainfluenzae*.⁴

MATERIEL DISPONIBLE

N° cat.	Description	N° cat.	Description
231727	Disques V de différenciation BBL Taxo , 50 disques/cartouche.	231730	Disques X de différenciation BBL Taxo , 10 x 50 disques.
231728	Disques V de différenciation BBL Taxo , 10 x 50 disques.	231731	Disques VX de différenciation BBL Taxo , 50 disques/cartouche.
231729	Disques X de différenciation BBL Taxo , 50 disques/cartouche.	231732	Disques VX de différenciation BBL Taxo , 10 x 50 disques.

BIBLIOGRAPHIE : voir la rubrique "References" du texte anglais.

Code du disque	Contenu du disque	Taille du disque
V	NAD	6 mm
X	Hémine	6 mm
VX	NAD et hémine	6 mm



Organisme	ATCC	Stimulation de la croissance		
		V	X	VX
<i>Haemophilus influenzae</i> , biogroupe <i>aegyptius</i>	11116	-	-	+
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	10014	+	-	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	7901	+	-	+

Espèces <i>Haemophilus</i>	Facteurs de croissance requis	
	X	V
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	-	-
<i>Haemophilus ducreyi</i>	+	-
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	+	+
<i>Haemophilus influenzae</i>	+	+
<i>Haemophilus influenzae</i> biogroupe <i>aegyptius</i>	+	+
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	-	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	-	+
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	-	+
<i>Haemophilus segnis</i>	-	+

BD BBL Taxo-Differenzierungsblättchen für *Haemophilus*-Spezies

Deutsch

- BBL Taxo V-Differenzierungsblättchen
- BBL Taxo X-Differenzierungsblättchen
- BBL Taxo VX-Differenzierungsblättchen

VERWENDUNGSZWECK

BBL Taxo-Differenzierungsblättchen dienen zur präsumtiven Differenzierung von *Haemophilus*-Spezies auf der Basis ihres Bedarfs für den Wachstumsfaktor X oder V bzw. beide Faktoren.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Haemophilus-Spezies sind Teil der normalen Flora des Respirationstrakts von Menschen und vielen Tierarten. *Haemophilus influenzae* kann als opportunistischer Erreger von Sekundärinfektionen, in der Regel nach einer Virusinfektion, auftreten. Dieser Organismus kann eine Reihe von Erkrankungen, von chronischen Atemwegsinfektionen bis zu Meningitis, verursachen. *Haemophilus parainfluenzae* ist selten an pathologischen Prozessen beteiligt. Bei der Kultivierung sind diese beiden Organismen im Hinblick auf Morphologie und Koloniebildung ähnlich und schwer zu unterscheiden. Zur Differenzierung dieser beiden Arten werden ihre unterschiedlichen Anforderungen für Wachstumsfaktoren herangezogen.

Davis¹ und Thjotta sowie Avery² stellten fest, daß *H. influenzae* zwei Wachstumsfaktoren benötigt; einen aus Blut, den sie als Faktor X bezeichneten und einen anderen, den sie als Faktor V bezeichneten. Bei Faktor X handelt es sich um Eisenprotoporphyrin. Dieser Faktor wird aus Hämin gebildet. Lwoff³ und Lwoff³ stellten Faktor V aus Backhefe her. Faktor V ist Nicotinamidadeninindinukleotid (NAD). Diese eindeutigen Wachstumsanforderungen sind bei der Differenzierung und Speziesidentifizierung von Nutzen.

Schokoladenagar, Pferdeblutagar und Kaninchenblutagar enthalten beide Wachstumsfaktoren und fördern das Wachstum der meisten *Haemophilus*-Spezies. BBL Hämoglobin stellt Faktor X zur Verfügung, und Supplement B, C oder VX stellt Faktor V bereit. BBL Fildes-Anreicherung, die in Kulturmedien in einer 5%igen Konzentration verwendet wird, ist ebenfalls eine Quelle für die Faktoren X und V. Die *Staphylococcus*-Satellitenmethode kann ebenfalls zur Isolierung von *Haemophilus* angewendet werden. *S. aureus* stellt Faktor V bereit und verbessert auf Schaffblutagar das Wachstum von *Haemophilus* um den *Staphylococcus*-Ausstrich. Diese Methode wird ebenfalls zur Speziesidentifizierung und Differenzierung angewendet.

Parker und Heoprich⁴ bereiteten Blättchen mit den Faktoren X und V zu und verwendeten sie zur Differenzierung von *H. influenzae*, wozu die Faktoren X und V benötigt werden und zur Differenzierung von *H. parainfluenzae*, wozu lediglich Faktor V zum Wachstum nötig ist. Die Kulturen wurden auf Herz-Infus-Agar, Trypticase-Soja-Agar oder Nähragar inokuliert. Russell⁵ verwendete mit den Faktoren X und V imprägnierte Blättchen, um Organismen des Genus *Haemophilus* auf der Basis ihres Bedarfs für diese Faktoren zu identifizieren und beurteilte dieses Verfahren als geeignet.

VERFAHRENSPRINZIP

Haemophilus-Spezies variieren in ihrem Bedarf für die Wachstumsfaktoren V und X. Diese Unterschiede sind bei der Isolierung und Differenzierung dieser Spezies von Nutzen. Zur Spezieszuordnung des Organismus wird das Vorhandensein oder Fehlen von Wachstum um bzw. zwischen den mit den Faktoren V, X und VX imprägnierten Blättchen beurteilt.

REAGENZILIEN

BBL Taxo V-, X- und VX-Differenzierungsblättchen sind Papierblättchen, die mit den aufgeführten Substanzen imprägniert und dem entsprechenden Code bedruckt sind.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

Die zur Handhabung und Entsorgung infektiöser Materialien geltenden Laborvorschriften beachten.

Aufbewahrung: BBL Taxo V-, X- und VX-Differenzierungsblättchen bei 2 – 8 °C lagern.

Das Verfallsdatum gilt für das Produkt bei ungeöffneter Packung und vorschriftsmäßiger Lagerung.

Produktverfall: Produkte, die den Identitäts- und Leistungsspezifikationen nicht entsprechen, dürfen nicht verwendet werden.

Blättchencode	Imprägniert mit	Blättchengröße
V	NAD	6 mm
X	Hämin	6 mm
VX	NAD und Hämin	6 mm

PROBENTNAHME UND -VORBEREITUNG

- Proben zur Isolierung von *Haemophilus*-Spezies können aus Rachen, Nasopharynx, Bindehäuten, Blut oder Spinalflüssigkeit entnommen werden.
- Primärproben sollten durch Inokulation auf Schokoladenagar zur Differenzierung vorbereitet werden. Alternativ dazu kann Blutagar mit einem Staphylokokken-Impfstrich verwendet werden.
- Von einem Anreicherungsmedium entnommene Kulturen sollten 1:100 in Trypticase-Soja-Bouillon verdünnt werden, um die Verschleppung von Wachstumsfaktoren aus dem Medium zu verhindern.
- Die Organismen gleichmäßig über den gesamten Herz-Infus-Agar oder Trypticase-Soja-Agar verteilen. Zur Differenzierung von *Haemophilus*-Spezies sollten nur Reinkulturen verwendet werden.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Je nach Bestellung wird eine Art der oben aufgeführten BBL Taxo Differenzierungsblättchen geliefert.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Pinzette, CO₂-Inkubator (35 ± 2 °C), Tupfer, Impföse, Bunsenbrenner oder Verbrennungsofen, Qualitätskontrollorganismen, Trypticase-Soja-Agar oder Herz-Infus-Agar, Trypticase-Soja-Bouillon.

Testdurchführung:

- Das gewünschte Blättchen unter Beachtung aseptischer Kautelen nach einer der nachstehenden Methoden auf den inokulierten Agar legen. Vorsichtig aufdrücken.

Zwei-Blättchen-Methode: BBL Taxo V- und X Differenzierungsblättchen mit einem Abstand von etwa 3 – 5 mm auflegen. (Abb. 1).

Drei-Blättchen-Methode: BBL Taxo V-, X- und VX Differenzierungsblättchen in Form eines gleichschenkligen Dreiecks mit einem Mindestabstand von 30 – 35 mm zwischen den Blättchen auflegen. (Abb. 2).

- Bei 35 ± 2 °C in einer 5 – 10%igen CO₂-Atmosphäre 18 – 24 h inkubieren.
- Das Wachstumsmuster um bzw. zwischen den Blättchen prüfen.

Qualitätskontrolle durch den Anwender:

Identität

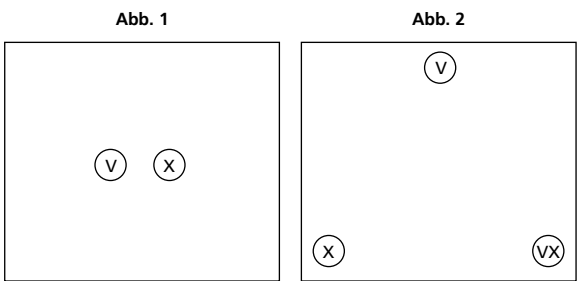
BBL Taxo V-Differenzierungsblättchen – Runde, weiße Papierblättchen mit einem Durchmesser von 6 mm und dem Aufdruck "V" auf beiden Seiten.

BBL Taxo X-Differenzierungsblättchen – Runde, braune Papierblättchen mit einem Durchmesser von 6 mm, und dem Aufdruck "X" auf beiden Seiten.

BBL Taxo VX-Differenzierungsblättchen – Runde, hellbeige Papierblättchen mit einem Durchmesser von 6 mm und dem Aufdruck "VX" auf beiden Seiten.

Kulturreaktion – V, X, VX: BBL Herz-Infus-Agarplatten mit einer Verdünnung des Testorganismus, die einem McFarland Standard von 0,5 entspricht, inokulieren. BBL Taxo V Differenzierungsblättchen, BBL Taxo X Differenzierungsblättchen und BBL Taxo VX Differenzierungsblättchen wie im Abschnitt "Testverfahren" beschrieben auf die Agar platen legen. Die Platten in einer CO₂ Atmosphäre bei 35 ± 2 °C 18 – 24 h lang inkubieren.

Es sind die geltenden gesetzlichen und behördlichen und in den Akkreditierungsbedingungen festgelegten Vorschriften zur Qualitätskontrolle sowie die laborinternen Standardvorgaben zur Qualitätskontrolle zu beachten. Anwender sollten die relevanten NCCLS-Dokumente und CLIA-Vorschriften über geeignete Testverfahren zur Qualitätskontrolle einsehen.



Organismus	ATCC	Wachstumsstimulation		
		V	X	VX
<i>Haemophilus influenzae</i> , Biogruppe <i>aegyptius</i>	11116	–	–	+
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	10014	+	–	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	7901	+	–	+

ERGNISSE

Zwei-Blttchen-Methode: Wachstum um nur ein Blttchen zeigt einen Bedarf nur fr diesen Wachstumsfaktor an. Wachstum zwischen den beiden Blttchen zeigt an, dab sowohl Faktor V als auch Faktor X ntigt werden.

Drei-Blttchen-Methode: Wachstum um das V- und VX-Blttchen bzw. das X- und VX-Blttchen zeigt einen Bedarf fr den einzelnen Wachstumsfaktor V bzw. X an. Wachstum nur um das VX-Blttchen zeigt einen Bedarf fr beide Faktoren an.

Die *Haemophilus*-Spezies in bereinstimmung mit den nachstehenden Wachstumsfaktorbedrfnissen identifizieren.

Falls Ergebnisse erzielt werden, die nicht in der Tabelle aufgefuhrt sind, liegt ggf. eine oder beide der folgenden Ursachen vor:

1. Falsche Verdunnung von Kulturen aus Anreicherungsmedien. Ein Inokulum, das zu stark verdunnt wurde, produziert u.U. kein Wachstum. Ein Inokulum, das zu wenig verdunnt wurde, kann Wachstumsfaktoren in einer Menge enthalten, die das Wachstum auf der gesamten Platte oder um ein oder mehrere Blttchen auf der Platte beeintrchtigt.
2. Mischkulturen knnen zu Wachstum um die Blttchen fhren.

Mit **BBL Taxo**-Differenzierungsblttchen ist nur eine prsumtive Identifizierung von *Haemophilus*-Spezies mglich. Zur Besttigung einer prsumtiven Identifikation ist ggf. ein Nachweis von Hmolysse und anderen Merkmalen erforderlich. Biochemische und serologische Tests knnen ebenfalls zur Speziesidentifizierung eingesetzt werden. Informationen zur weiteren Identifizierung von *Haemophilus*-Spezies finden Sie in der entsprechenden Literatur.^{6,7}

VERFAHRENSBESCHRANKUNGEN

Die Differenzierung von *Haemophilus*-Spezies mit den oben genannten Verfahren ist insofern prsumtiv, als Bedrfnisse fr Wachstumsfaktoren identifiziert werden. Im Hinblick auf diese Bedrfnisse bestehen jedoch hnlichkeiten zwischen den verschiedenen Spezies. Zur vollstndigen Identifizierung sollten zuszliche biochemische und serologische Tests durchgefuhrt werden.

LEISTUNGSMERKMALE

In einer Studie von Parker und Hoeprich wurden 255 Nasopharyngeal- und 1317 Rachenabstriche mit Faktor-X- und Faktor-V-Testblttchen auf Anwesenheit von *Haemophilus*-hnlichen Spezies untersucht. Bei den 255 Nasopharyngeal-Abstrichen wurde 59 Mal *H. influenzae* identifiziert (Wachstum nur zwischen den Faktor-X- und Faktor-V-Testblttchen), dazu 12 Mal *H. parainfluenzae* (Wachstum nur um die Faktor-V-Testblttchen). Bei den 1317 Rachenabstrichen wurde 129 Mal *H. influenzae* identifiziert und 302 Mal *H. parainfluenzae*.⁴

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr. Beschreibung

231727 **BBL Taxo** V-Differenzierungsblttchen
50 Blttchen/Kassette.

231728 **BBL Taxo** V-Differenzierungsblttchen
6 x 50 Blttchen.

231729 **BBL Taxo** X-Differenzierungsblttchen
50 Blttchen/Kassette.

Best.-Nr. Beschreibung

231730 **BBL Taxo** X-Differenzierungsblttchen
6 x 50 Blttchen.

231731 **BBL Taxo** VX-Differenzierungsblttchen
50 Blttchen/Kassette.

231732 **BBL Taxo** VX-Differenzierungsblttchen
6 x 50 Blttchen.

LITERATURNACHWEIS: S. "References" im englischen Text.

BD Dischi BBL Taxo per differenziazione di specie *Haemophilus*

Italiano

Dischi **BBL Taxo** V per differenziazione
Dischi **BBL Taxo** X per differenziazione
Dischi **BBL Taxo** VX per differenziazione

USO PREVISTO

I dischi **BBL Taxo** per differenziazione sono usati per l'identificazione presuntiva di *Haemophilus* spp. in base ai rispettivi fabbisogni di fattori X o V o di entrambi.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

Haemophilus spp. fanno parte della normale flora respiratoria degli uomini e di molte specie animali. *Haemophilus influenzae* pu essere un patogeno opportunista secondario, generalmente in seguito a infezione virale. Questo organismo pu causare svariate malattie, da infezioni respiratorie croniche a meningite. *Haemophilus parainfluenzae* è raramente interessato nei processi patologici. In coltura, questi due organismi sono simili morfologicamente e a livello di colonia, e ciò complica la differenziazione. I loro diversi fabbisogni in termini di fattori di crescita vengono utilizzati per la differenziazione delle rispettive specie.

Davis,¹ Thjotta e Avery² hanno rilevato che le specie di tipo *H. influenzae* richiedono due fattori di crescita: uno ematico, da essi chiamato fattore X e un altro definito fattore V. Il fattore X è stato identificato come protoporfirina di ferro. L'emina è usata come fonte di questo fattore. Lwoff e Lwoff³ hanno ricavato il fattore V dal lievito da forno. Il fattore V è nicotina-adenin dinucleotide (NAD). Questi complessi fabbisogni di crescita agevolano la differenziazione e l'identificazione di specie.

Agar cioccolato, agar sangue di cavallo e agar sangue di coniglio contengono tutti entrambi i fattori e supportano la crescita della maggior parte di *Haemophilus* spp. L'emoglobina **BBL** fornisce il fattore X, mentre i supplementi B o C o VX forniscono il fattore V. L'arricchimento **BBL** Fildes, impiegato in terreni di coltura con una concentrazione del 5%, è anch'esso fonte dei fattori X e V. Il metodo satellite *Staphylococcus* pu anch'esso essere usato per isolare *Haemophilus*. *S. aureus* fornisce il fattore V e, allorché seminato su agar sangue di montone, aumenta la crescita di *Haemophilus* intorno alla semina di *Staphylococcus*. Anche questo metodo è usato per la differenziazione e l'identificazione di specie.

Parker ed Heoprich⁴ hanno preparato dischi contenenti i fattori X e V e li hanno usati per differenziare *H. influenzae*, che richiede i fattori X e V, da *H. parainfluenzae*, che richiede soltanto il fattore V per la crescita. Le colture sono state inoculate su agar infuso cuore, agar soia triptico o agar nutritivo. Russell⁵ ha usato dischi impregnati di fattori X e V per identificare organismi appartenenti al genere *Haemophilus* in base ai rispettivi fabbisogni di tali fattori e ha documentato l'idoneità di questa procedura.

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

I fabbisogni di fattori di crescita V e X da parte di *Haemophilus* spp. variano e tale variazione è utile ai fini dell'isolamento e della differenziazione di queste specie. La specie dell'organismo viene determinata in base alla presenza o assenza di crescita intorno e/o tra dischi impregnati di fattori V, X e VX.

REAGENTI

I dischi **BBL Taxo** V, X e VX per differenziazione sono dischi di carta impregnati delle sostanze qui elencate e identificati con il codice appropriato.

Avvertenze e precauzioni:

Per uso diagnostico *in vitro*.

Seguire le procedure di laboratorio stabilite per quanto riguarda il trattamento e lo smaltimento di materiale infetto.

Modalità di conservazione: conservare i dischi **BBL Taxo** V, X e VX per differenziazione a 2 - 8 °C.

La data di scadenza indicata si riferisce al prodotto in confezionamento integro, correttamente conservato.

Deterioramento del prodotto: non usare il prodotto se non è conforme alle specifiche di identità e performance.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

1. È possibile ottenere campioni per l'isolamento di *Haemophilus* spp. da faringe, tratto nasofaringeo, congiuntiva, sangue e liquido cerebrospinale.
2. Preparare campioni primari per la differenziazione mediante incolo su agar cioccolato. In alternativa, si pu usare agar sangue con una semina crociata di stafilococchi.

<i>Haemophilus</i> -Spezies	Erforderlicher Wachstumsfaktor	
	X	V
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	-	-
<i>Haemophilus ducreyi</i>	+	-
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	+	+
<i>Haemophilus influenzae</i>	+	+
<i>Haemophilus influenzae</i> Biogruppe aegyptius	+	+
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	-	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	-	+
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	-	+
<i>Haemophilus segnis</i>	-	+

- Diluire 1:100 le colture ottenute da terreno arricchito in brodo di soia triptico per impedire la formazione di residui di fattori di crescita dal terreno.
- Distribuire uniformemente gli organismi sull'intera superficie dell'agar infuso cuore o dell'agar soia triptico. Usare soltanto colture pure per la differenziazione di *Haemophilus* spp.

PROCEDURA

Materiale fornito: a seconda del prodotto ordinato, viene fornito uno dei tipi di Dischi BBL Taxo per differenziazione indicati sopra.

Materiali richiesti ma non forniti: pinze, incubatore CO₂ (35 ± 2 °C), tamponi, ansa da inoculo, becco Bunsen o inceneritore, organismi per controllo di qualità, agar soia triptico o agar infuso cuore, brodo di soia triptico.

Procedura del test:

- Con una tecnica asettica, porre i dischi desiderati sull'agar inoculato seguendo uno dei metodi qui illustrati. Premere delicatamente.

Metodo a due dischi: Disporre i dischi BBL Taxo V e X per differenziazione a una distanza di circa 3 – 5 mm l'uno dall'altro (Fig. 1).

Metodo a tre dischi: Disporre i dischi BBL Taxo V, X e VX per differenziazione a forma di triangolo equilatero a una distanza di almeno 30 – 35 mm l'uno dall'altro (Fig. 2).

- Incubare a 35 ± 2 °C in un'atmosfera al 5 – 10% di CO₂ per 18 – 24 h.
- Esaminare il pattern di crescita intorno e/o tra i dischi.

Controllo di qualità per l'utilizzatore:

Specifiche di identità

Dischi BBL Taxo V per differenziazione – Dischi di carta rotondi bianchi da 6 mm recanti la scritta "V" su entrambi i lati.

Dischi BBL Taxo X per differenziazione – Dischi di carta rotondi marroni da 6 mm recanti la scritta "X" su entrambi i lati.

Dischi BBL Taxo VX per differenziazione – Dischi di carta rotondi color nocciola da 6 mm recanti la scritta "VX" su entrambi i lati.

Esito della coltura – V, X, VX: Inoculare le piastre BBL di agar infuso cuore con una diluizione di organismi da testare simile allo standard di McFarland 0,5. Porre dischi per differenziazione i BBL Taxo V, BBL Taxo X e BBL Taxo VX sulla superficie delle piastre. Incubare le piastre in CO₂ a 35 ± 2 °C per 18 – 24 h.

Le procedure prescritte per il controllo di qualità devono essere effettuate in conformità alle norme vigenti o ai requisiti di accreditazione e alla prassi di controllo di qualità del laboratorio specifico. Per una guida alla prassi di controllo di qualità appropriata, si consiglia di consultare le norme CLIA e la documentazione NCCLS in merito.

RISULTATI

Metodo a due dischi: La crescita intorno a un solo disco indica il fabbisogno esclusivo di quel fattore. La crescita tra i due dischi indica che sono necessari entrambi i fattori, V e X.

Metodo a tre dischi: la crescita intorno ai dischi V e VX o ai dischi X e VX indica rispettivamente il fabbisogno del solo fattore V o X. La crescita intorno al solo disco VX indica il fabbisogno di entrambi i fattori.

Interpretare le specie di *Haemophilus* in base ai fabbisogni di fattori di crescita sotto elencati.

Risultati diversi da quelli elencati nella tabella sono indice di una delle condizioni qui illustrate:

- Errata diluizione di colture ricavate da terreni arricchiti. È possibile che un inoculo troppo diluito non dia alcuna crescita, mentre uno poco diluito può contenere un numero di fattori di crescita sufficiente a influenzare la crescita su tutta la piastra o in aree circostanti uno o più dischi inappropriati sulla piastra.
- Colture miste possono determinare crescita intorno ai dischi.

Con i dischi BBL Taxo per differenziazione è possibile eseguire unicamente l'identificazione presuntiva di *Haemophilus* spp. La determinazione di emolisi e caratteristiche diverse dall'emolisi possono essere necessarie per confermare un'identificazione presuntiva. È possibile che siano necessari anche test biochimici e sierologici per l'identificazione di specie. Per l'ulteriore identificazione di *Haemophilus* spp., consultare la documentazione appropriata.^{6,7}

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

La differenziazione di *Haemophilus* spp. mediante le procedure suddette è presuntiva in quanto si identificano i fabbisogni di fattori di crescita. Tuttavia, tali fabbisogni presentano analogie da una specie all'altra. Per un'identificazione completa, è necessario eseguire altri test biochimici e sierologici.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE

In uno studio condotto da Parker e Hoeprich, sono stati esaminati 255 tamponi nasofaringei e 1317 tamponi faringei per individuare la presenza di specie tipo *Haemophilus* utilizzando dischi con fattori X e V. Dei 255 tamponi nasofaringei, 59 sono stati identificati come *H. influenzae* (crescita presente solo tra i dischi X e V) e 12 come *H. parainfluenzae* (crescita solo attorno al disco V). Dei 1317 tamponi faringei, 129 sono stati identificati come *H. influenzae* e 302 come *H. parainfluenzae*.⁴

DISPONIBILITÀ

N° di cat.	Descrizione	N° di cat.	Descrizione
231727	Dischi BBL Taxo V per differenziazione, 50 dischi/cartuccia.	231730	Dischi BBL Taxo X per differenziazione, 10 x 50 dischi.
231728	Dischi BBL Taxo V per differenziazione, 10 x 50 dischi.	231731	Dischi BBL Taxo VX per differenziazione, 50 dischi/cartuccia.
231729	Dischi BBL Taxo X per differenziazione, 50 dischi/cartuccia.	231732	Dischi BBL Taxo VX per differenziazione, 10 x 50 dischi.

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

BD Discos BBL Taxo para diferenciación de especies de *Haemophilus*

Español

Discos V BBL Taxo para diferenciación
Discos X BBL Taxo para diferenciación
Discos VX BBL Taxo para diferenciación

USO PREVISTO

Los discos BBL Taxo para diferenciación se utilizan en la diferenciación presunta de *Haemophilus* spp. fundamentada en su necesidad del factor X, factor V o ambos.

RESUMEN Y EXPLICACION

Las *Haemophilus* spp. forman parte de la flora respiratoria normal de los humanos y muchas especies animales. El *Haemophilus influenzae* puede ser un invasor oportunista secundario, generalmente tras una infección viral. Este organismo puede originar diversas enfermedades, desde infecciones respiratorias crónicas a la meningitis. El *Haemophilus parainfluenzae* rara vez está comprometido en procesos patológicos. En los cultivos, estos dos organismos tienen una morfología y colonias similares, lo cual dificulta su diferenciación. Sus diferentes necesidades para los factores de crecimiento se usan para diferenciar entre estas especies.

Davis¹ y Thjotta y Avery² reconocieron que la especie tipo *H. influenzae* necesita dos factores de crecimiento diferentes, uno sanguíneo que llamaron factor X y otro que llamaron factor V. El factor X ha sido identificado como la protoporfirina férrica. La hemina se usa como fuente de este factor. Lwoff y Lwoff³ prepararon el factor V a partir de levadura de pan. El factor V es la nicotina adenina dinucleótido (NAD). Estos requisitos exigentes para el crecimiento ayudan en la diferenciación e identificación de las especies.

El agar chocolate, agar sangre de equino y agar sangre de conejo contienen ambos factores de crecimiento y permiten el crecimiento de la mayoría de *Haemophilus* spp. La hemoglobina BBL proporciona factor X, mientras que el suplemento B o C, o VX proporcionará el factor V. El producto de enriquecimiento BBL Fildes, utilizado en medios de cultivo a una concentración de 5%, también es una fuente de los factores X y V. El método satélite para *Staphylococcus* también puede ser utilizado para aislar *Haemophilus*. *S. aureus* aporta factor V y cuando se siembra en agar sangre de carnero favorece el crecimiento de *Haemophilus* alrededor de la siembra de *Staphylococcus*. Este método también se utiliza para la identificación y diferenciación de las especies.

Parker y Hoeplich⁴ prepararon discos con los factores X y V y los utilizaron para diferenciar entre *H. influenzae*, que necesita los factores X y V, y *H. parainfluenzae*, que necesita sólo factor V para su crecimiento. Los cultivos fueron inoculados en agar infusión de corazón, agar soja triptico o agar nutritivo. Russell⁵ usó discos impregnados de los factores X y V para identificar organismos pertenecientes al género *Haemophilus* por su necesidad de estos factores y comunicó que este procedimiento era adecuado.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Las *Haemophilus* spp. tienen variaciones en su necesidad de los factores de crecimiento V y X. Esta variación es útil para el aislamiento y diferenciación de estas especies. La presencia o ausencia de crecimiento alrededor y/o entre los discos impregnados de los factores V, X y VX se valora para determinar las especies del organismo.

REACTIVOS

Los discos V, X y VX para diferenciación son discos de papel impregnados de las sustancias indicadas y llevan impreso el código correspondiente.

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Siga el procedimiento de laboratorio que ha sido establecido para la manipulación y desecho de materiales infecciosos.

Instrucciones para el almacenamiento: Conserve los discos V, X y VX BBL Taxo para diferenciación a 2 – 8 °C.

La fecha de caducidad es vigente para el producto cuando éste está envasado en su recipiente intacto y ha sido conservado según las instrucciones.

Deterioro del producto: No utilice el producto si no cumple las especificaciones de identidad y rendimiento.

RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

- Las muestras para el aislamiento de *Haemophilus* spp. pueden obtenerse de la garganta, nasofaringe, conjuntivas, sangre o líquido cefalorraquídeo.
- Las muestras primarias deben prepararse para la diferenciación por inoculación en agar chocolate. Alternativamente, el agar sangre puede ser utilizado con una siembra cruzada de estafilococos.
- Los cultivos obtenidos de un medio enriquecido deben diluirse a 1:100 en caldo de soja triptico para prevenir el arrastre de los factores de crecimiento del medio.
- Distribuya uniformemente los organismos por toda la superficie del agar infusión de corazón o agar soja triptico. Se deben utilizar únicamente cultivos puros para la diferenciación de *Haemophilus* spp.

PROCEDIMIENTO

Material suministrado: Según el producto ordenado, se proporciona uno de los discos BBL Taxo para diferenciación antes mencionados.

Materiales necesarios pero no suministrados: Pinzas, estufa de CO₂ (35 ± 2 °C), torundas, asa de inoculación, quemador de Bunsen o incinerador, organismos para el control de calidad, agar soja triptico o agar infusión de corazón, caldo de soja triptico.

Procedimiento de análisis:

- Utilizando una técnica aséptica, coloque los discos que desea usar sobre el agar inoculado siguiendo uno de los métodos descritos a continuación. Presione suavemente sobre los discos.

Método de dos discos: Coloque los discos V y X BBL Taxo para diferenciación dejando un espacio de aproximadamente 3 – 5 mm entre los discos (Fig. 1).

Método de tres discos: Coloque los discos V, X y VX BBL Taxo para diferenciación en los tres vértices de un triángulo equilátero, dejando al menos 30 – 35 mm entre los discos (Fig. 2).

- Incuba a 35 ± 2 °C con una atmósfera de 5 – 10% CO₂ durante 18 – 24 h.
- Examine el patrón de crecimiento alrededor y/o entre los discos.

Control de calidad por parte del usuario:

Especificaciones de la identidad

Discos V BBL Taxo para diferenciación – Discos de papel redondos de 6 mm, de color blanco, con “V” impreso en ambos lados.

Discos X BBL Taxo para diferenciación – Discos de papel redondos de 6 mm, de color marrón, con “X” impreso en ambos lados.

Discos VX BBL Taxo para diferenciación – Discos de papel redondos de 6 mm, de color tostado claro, con “VX” impreso en ambos lados.

Respuesta del cultivo – V, X, VX: Inocule placas BBL de agar infusión de corazón con una muestra de los organismos a analizar diluida hasta aproximarse al patrón McFarland 0,5. Coloque los discos V BBL Taxo para diferenciación, discos X BBL Taxo para diferenciación y discos VX BBL Taxo para diferenciación sobre la superficie de las placas, como se indica en “Procedimientos de Prueba”. Incube las placas con CO₂ a 35 ± 2 °C durante 18 – 24 h.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de NCCLS y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

RESULTADOS

Método de dos discos: El crecimiento alrededor de un disco aislado indica una necesidad exclusiva de ese factor. El crecimiento entre los dos discos indica la necesidad de los factores V y X.

Método de tres discos: El crecimiento alrededor de los discos V y VX o de los discos X y VX indica la necesidad de un factor de crecimiento aislado, V o X, respectivamente. El crecimiento alrededor del disco VX aislado indica la necesidad de ambos factores.

Interprete las especies de *Haemophilus* según las necesidades de los factores de crecimiento indicadas a continuación.

Código del disco	Contenido del disco	Tamaño del disco
V	NAD	6 mm
X	Hemina	6 mm
VX	NAD y hemina	6 mm

Fig. 1

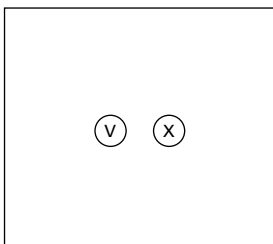
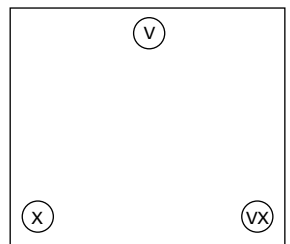


Fig. 2



Organismo	ATCC	Estimulación del crecimiento		
		V	X	VX
<i>Haemophilus influenzae</i> , biogrupo <i>aegyptius</i>	11116	–	–	+
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	10014	+	–	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	7901	+	–	+

Los resultados que no coinciden con los indicados en la tabla pueden sugerir cualquiera de los supuestos siguientes, o ambos:

1. La dilución inadecuada de cultivos obtenidos de medios de cultivo enriquecidos. Un inóculo excesivamente diluido puede no producir crecimiento. Uno insuficientemente diluido puede contener suficientes factores de crecimiento como para afectar el crecimiento en toda la placa o producir resultados de crecimiento inapropiados en las zonas alrededor de uno o más discos de la placa.

2. Los cultivos mixtos pueden dar lugar a crecimiento alrededor de los discos.

Sólo es posible hacer la identificación presunta de las especies de *Haemophilus* utilizando los discos **BBL Taxo** para diferenciación. Puede ser necesaria la determinación de la hemólisis y otras características no hemolíticas para confirmar una identificación presunta. Pueden utilizarse también pruebas bioquímicas y serológicas para la identificación de las especies. Consulte las referencias apropiadas para conocer más sobre la identificación de las *Haemophilus* spp^{6,7}.

Especies de <i>Haemophilus</i>	Necesidades de crecimiento	
	X	V
<i>Haemophilus aphrophilus</i>	–	–
<i>Haemophilus ducreyi</i>	+	–
<i>Haemophilus haemolyticus</i>	+	+
<i>Haemophilus influenzae</i>	+	+
<i>Haemophilus influenzae</i> biogrupo <i>aegyptius</i>	+	+
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	–	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	–	+
<i>Haemophilus paraphrophilus</i>	–	+
<i>Haemophilus segnis</i>	–	+

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La diferenciación de las especies de *Haemophilus* utilizando los procedimientos anteriores es presunta porque identifica las necesidades de factor de crecimiento. Sin embargo, estas necesidades tienen semejanzas entre las especies. Se deben realizar pruebas bioquímicas y serológicas adicionales para hacer una identificación completa.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

En un estudio realizado por Parker y Hoeprich, se examinaron 255 torundas nasofaríngeas y 1.317 torundas faríngeas para determinar la presencia de especies similares a *Haemophilus* mediante discos de factor X y V. En las torundas nasofaríngeas, se identificaron 59 con *H. influenzae* (crecimiento sólo entre los discos de factor X y de factor V) y se identificaron 12 de *H. parainfluenzae* (crecimiento sólo alrededor del disco de factor V). De las 1.317 torundas faríngeas, se identificaron 129 de *H. influenzae* y 302 de *H. parainfluenzae*⁴.

DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

231727 Discos V **BBL Taxo** para diferenciación, 50 discos/carro.

231728 Discos V **BBL Taxo** para diferenciación, 10 x 50 discos.

231729 Discos X **BBL Taxo** para diferenciación, 50 discos/carro.

Nº de cat. Descripción

231730 Discos X **BBL Taxo** para diferenciación, 10 x 50 discos.

231731 Discos VX **BBL Taxo** para diferenciación, 50 discos/carro.

231732 Discos VX **BBL Taxo** para diferenciación, 10 x 50 discos.

BIBLIOGRAFIA: Ver "References" en el texto en inglés.



Manufacturer / Výrobce / Producent / Fabrikant / Tootja / Valmistaja / Fabricant / Hersteller / Κατασκευαστής / Gyártó / Ditta produttrice / Gamintojas / Producent / Fabricante / Výrobca / Tillverkare / Производитель / Producător / Urećici / Proizvođač / Производитель / Атқарушы



Use by / Spotfebuje do / Anvendes før / Houdbaar tot / Kasutada enne / Viimeinkäyttöpäivä / A utiliser avant / Verwendbar bis / Ημερομηνία λήξης / Felhasználhatóság dátuma / Usare entro / Naudokite iki / Brukes før / Stosować do / Utilizar em / Použite do / Usar antes de / Använd före / Исползовать до / А se utiliza până la / Son kullanna tarihi / Uputrebti do / Исползовать до / дейн пайдалануға / Uputriebiti do /
 YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = konec měsíce) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutning af måned) /
 JJJJ-MM-DD / JJJJ-MM (MM = einde maand) /
 ÁÁÁÁ-KK-PP / ÁÁÁÁ-KK (KK = kuu lõpp) /
 VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) /
 ÁÁÁÁ-MM-JJ / ÁÁÁÁ-MM (MM = fin du mois) /
 JJJJ-MM-TT / JJJJ-MM (MM = Monatsende) /
 EEEEE-MM-HH / EEEEE-MM (MM = τέλος του μήνα) /
 ÉÉÉÉ-HH-NN / ÉÉÉÉ-HH (HH = hónap utolsó napja) /
 ÁÁÁÁ-MM-GG / ÁÁÁÁ-MM (MM = fine mese) /
 MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mėnesio pabaiga) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = fim do mês) /
 RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec mesiacu) /
 aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /
 ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutet på månaden) /
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = края на месеца) /
 ÁÁÁÁ-LL-ZZ / ÁÁÁÁ-LL (LL = sfârşitul lunii) /
 YYYY-AA-GG / YYYY-AA (AA = ayın sonu) /
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj meseca) /
 ГГГГ-ММ-ДД / ГГГГ-ММ (ММ = конец месяца) /
 ЖЖЖЖ-АА-КК / ЖЖЖЖ-АА (АА = айдың соңы) /
 GGGG-MM-DD / GGGG-MM (MM = kraj mjeseca)



Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalógusszám / Numero di catalogo / Katalogo numeris / Numer katalogowy / Número do catálogo / Katalogové číslo / Número de catálogo / Каталоген номер / Număr de catalog / Katalog numarası / Kataloški broj / Номер на каталог / Каталог нөмірі



Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret repræsentant i EU / Erkend vertegenwoordiger in de Europese Unie / Volitatud esindaja Euroopa Nõukogus / Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Représentant agréé pour la C.E.E. / Autorisierte EG-Vertretung / Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα / Hivatalos képviselő az Európai Unióban / Rappresentante autorizzato nella Comunità europea / Jgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Autorisert representant i EU / Autoryzowane przedstawicielstwo w Unii Europejskiej / Representante autorizado na União Europeia / Autorizovaný zástupca v Európskom spoločenstve / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизиран представител в EU / Représentant autorizat în Uniunea Europeană / Автура Топилулуғу Yetkilli Темсiлсiсi / Ovlašćeni predstavnik u Evropskoj zajednici / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы уәкілетті екіл / Autorizuirani predstavnik u EU



In Vitro Diagnostic Medical Device / Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro / In vitro diagnostisk medicinsk anordning / Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnose / In vitro diagnostika meditsiinaparatuur / Lääkinällinen in vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo medico diagnostico in vitro. / In vitro diagnostikos prietaisais / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicínska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo medico de diagnóstico in vitro / Medicínsk anordning för in vitro-diagnostik / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diagnostik Tibbi Cihaz / Medicínski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики ин витро / Жасанды жағдайда жүзiрегiн медициналық диагностика аспабы / Medicínska pomagala za In Vitro Dijagnostiku



Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimitet / Temperaturi piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturbereich / Οριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrænsning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenie teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning / Температурни ограничения / Limitare de temperatură / Sicaklık sinirlaması / Ograničenje temperature / Ограничение температуры / Температураны шектеу / Dozvoljena temperatura



Batch Code (Lot) / Kód (číslo) šarže / Batch kode (Lot) / Chargennummer (lot) / Partii kood / Eräkoodi (LOT) / Code de lot (Lot) / Chargencode (Chargenbezeichnung) / Κωδικός παρτίδας (Παρτίδα) / Tétel száma (Lot) / Codice del lotto (partita) / Partijos numeris (Lot) / Batch-kode (Serie) / Kod partii (seria) / Código do lote (Lote) / Kód série (šarža) / Código de lote (Lote) / Satskod (parti) / Код (Партида) / Număr lot (Lotul) / Parti Kodu (Lot) / Kod serije / Код партии (лор) / Топтама коды / Lot (kod)





Contains sufficient for <n> tests / Dostatečné množství pro <n> testů / Indeholder tilstrækkeligt til <n> test / Voldoende voor <n> tests / Küllaldane <n> testide jaoks / Sisältöön riittävä <n> testejä varten / Contenu suffisant pour <n> tests / Ausreichend für <n> Tests / Περιέχει επαρκή ποσότητα <n> εξετάσεις / <n> teszthez elegendő / Contenuto sufficiente per <n> test / Pakankamas kiekis atlikti <n> testų / Innholder tilstrekkelig for <n> tester / Zawiera ilość wystarczającą do <n> testów / Contênto suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester / Съдържањието е достатъчно за <n> теста / Conține suficient pentru <n> teste / <n> testleri için yeterli miktarda içerir / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Достаточнo для <n> тестов(а) / <n> тесттери үшін жеткілікті / Sadržaj za (n) testova



Consult Instructions for Use / Prostudujte pokyny k použití / Læs brugsanvisningen / Raadpleeg gebruiksaanwijzing / Lugeada kasutusjuhendit / Tarkista käyttöohjeista / Consulter la notice d'emploi / Gebrauchsanweisung beachten / Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης / Olvassa el a használati utasítást / Consultare le istruzioni per l'uso / Skaitykite naudojimo instrukcijas / Se i bruksanvisningen / Zobacz instrukcja użytkowania / Consulte as instruções de utilização / Pozri Pokyny na používanie / Consultar las instrucciones de uso / Se bruksanvisningen / Направете справка в инструкциите за употреба / Consultați instrucțiunile de utilizare / Kullanim Talimatları'na başvurun / Pogledajte uputstvo za upotrebu / См. руководство по эксплуатации / Пайдалану нұсқаулығымен танысып алыңыз / Koristi upute za upotrebu



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

 Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare, Ireland