



BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin • BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin

NAMJENA

BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin (čokoladni agar s IsoVitaleXom i bacitracinom) i **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin** (moždano-srčani infuzijski agar s 5% konjske krvi i bacitracinom) selektivne su podloge za izolaciju bakterije *Haemophilus influenzae* iz kliničkih uzoraka.

NAČELA I OBJAŠNJENJE POSTUPKA

Mikrobiološka metoda.

Iako vrste *Haemophilus* čine normalni dio flore gornjeg respiratornog trakta čovjeka, neki serotipovi *H. influenzae*, kao što su b i f (i mnogo rjeđe c) važan su uzrok meningitisa, sepse, epiglotitisa i mnogih drugih teških infekcija. Do uvođenja cijepljenja u mnogim zemljama, *H. influenzae* bio je jedan od tri vodeća uzroka bakterijskog meningitisa u cijelom svijetu.¹ Na običnim podlogama s agarom s ovčjom krvi *H. influenzae* i neke druge vrste *Haemophilus* ne mogu rasti jer su im potrebni faktori X (=hem) i V (=NAD).

BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin sadrži hemoglobin koji opskrbljuje hemom i **BD IsoVitaleX** koji opskrbljuje NAD-om (=nikotinamid adenin dinukleotid) i drugim vitaminima. Glavne hranjive tvari osigurava čokoladni agar GC II.

U **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin** glavne hranjive tvari osigurava moždano-srčani agar, a konjska krv opskrbljuje hemom (faktor X) i NAD-om (faktor V) koji potiču rast *H. influenzae*. Rast ovih organizama može se pojačati stavljanjem traka s faktorom V (npr. trake s faktorom V **BD Taxo**) na podlogu prije njezine inokulacije.

Bacitracin se dodaje u obje podloge kako bi se inhibirala većina normalne flore, dok je *H. influenzae* rezistentan na taj protumikrobni agens.¹⁻⁴

BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin i **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin** koriste se za izolaciju bakterije *Haemophilus influenzae* iz kliničkih uzoraka koji sadrže normalnu floru.

REAGENSI

Formule* po litri pročišćene vode

BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin		BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin	
Pankreatična digestija kazeina	7,5 g	Moždano-srčani bujon iz krutih tvari	8,0 g
Odabrani pepton iz mesa	7,5	Peptična digestija životinjskog tkiva	5,0
Kukuruzni škrob	1,0	Pankreatična digestija kazeina	16,0
Dikalijev hidrogen fosfat	4,0	Natrijev klorid	5,0
Kalijev dihidrogen fosfat	1,0	Glukoza	2,0
Natrijev klorid	5,0	Dinatrijev hidrogen fosfat	2,5
Agar	14,0	Agar	13,5
Bacitracin	50 000 IU	Bacitracin	16 500 IU
Hemoglobin	10,0	Konjska krv, defibrirana	50,0 mL
IsoVitaleX	10,0 mL	pH 7,4 +/- 0,2	
pH 7,2 +/- 0,2			

*Prilagođeno i/ili dodano kako bi se udovoljilo kriterijima učinkovitosti.

Obogaćenje **BD IsoVitalex** dodano u **BD Chocolate Agar with IsoVitalex and Bacitracin** sadrži sljedeće faktore rasta (formula* po litri pročišćene vode):

Vitamin B ₁₂	0,01 g
L-Glutamin	10,0
Adenin	1,0
Guanin hidroklorid	0,03
p-Aminobenzoična kiselina	0,013
Nikotinamid-adenin-dinukleotid (NAD)	0,25
Tiamin pirofosfat	0,1
Željezov nitrat	0,02
Tiamin hidroklorid	0,003
Cistein hidroklorid	25,9
L-Cistin	1,1
Glukoza	100,0

*Prilagođeno i/ili dodano prema potrebi kako bi se udovoljilo kriterijima učinkovitosti.

MJERE OPREZA

IVD . Samo za profesionalnu primjenu. 

Ne upotrebljavajte pločice ako su vidljivi znakovi kontaminacije mikrobima, promjena boje, sušenje, pucanje ili ostali znakovi pogoršanja kvalitete.

Pogledajte dokument **OPĆE UPUTE ZA UPOTREBU** o postupcima aseptičnog rukovanja, biološkim opasnostima i odlaganju iskorištenog proizvoda.

ČUVANJE I ROK VALJANOSTI

Po primitku pohranite pločice na tamnom mjestu pri temperaturi od 2 – 8 °C u originalnom pakiranju do trenutka upotrebe. Pazite da ne dođe do smrzavanja i pregrijavanja. Pločice se mogu inokulirati do datuma isteka valjanosti (pogledajte naljepnicu na pakiranju) te inkubirati tijekom preporučenih rokova inkubacije.

Pločice iz otvorenih pakiranja po 10 pločica mogu se koristiti tjedan dana ako se čuvaju na čistom mjestu pri temperaturi od 2 – 8 °C.

KORISNIČKA KONTROLA KVALITETE

Inokulirajte reprezentativne uzorke sa sljedećim sojevima (za detalje pogledajte dokument **OPĆE UPUTE ZA UPOTREBU**). Inkubirajte 24 – 48 sati u aerobnoj atmosferi obogaćenoj ugljičnim dioksidom.

Sojevi	BD Chocolate Agar with IsoVitalex and Bacitracin	BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	Prihvatljiv do dobar rast; male prozirne do sive kolonije	Zadovoljavajući rast; prozirne male kolonije; dobar do odličan rast oko traka s faktorom V na podlozi
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Djelomična do potpuna inhibicija	Djelomična do potpuna inhibicija
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Djelomična do potpuna inhibicija	Djelomična do potpuna inhibicija
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Djelomična do potpuna inhibicija	Djelomična do potpuna inhibicija
<i>Streptococcus mitis</i> DSM 12643	Djelomična do potpuna inhibicija	Djelomična do potpuna inhibicija
Nije inokulirano	Čokoladno smeđa, neprozirna	Crvena (boja krvi)

POSTUPAK

Priloženi materijal

BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin ili

BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin,

oba se isporučuju u pločicama **Stacker** od 90 mm). Mikrobiološki kontrolirano.

Materijal koji nije priložen

Podloge za dodatne kulture, reagensi i laboratorijska oprema prema potrebi; trake s faktorom V

BD Taxo (samo za **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin**).

Vrste uzoraka

Ove podloge namijenjene su izolaciji bakterije *Haemophilus influenzae* iz uzoraka uzetih iz dišnih puteva, npr. briseva grla ili drugih uzoraka koji sadrže normalnu floru, npr. konjunktivalni brisevi (pogledajte također **KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA I OGRANIČENJA POSTUPKA**).

Prikupljanje uzoraka i transport

Haemophilus influenzae osjetljiva je na nepovoljne uvjete u okruženju. Zbog toga za sve uzorke treba koristiti odgovarajući medij za transport. Uzorci se moraju poslati u laboratorij što je prije moguće te ne smiju biti stariji od 24 sata, čak i u slučaju da se koristi mediji za transport.

Optimalna temperatura za transport je 20 – 25 °C. Nemojte stavljati u hladnjak!

Postupak ispitivanja

Razmažite uzorak odmah po primitku u laboratorij. Pločica s razmazom primarno se koristi za izolaciju čistih kultura iz uzoraka koji sadrže miješanu floru.

Drugi način je, u slučaju da se kultura nanosi na materijal izravno štapićem, da štapić protrljate po malom dijelu površine na rubu, a zatim razmažete iz tog inokuliranog dijela. Traka s faktorom V može se staviti na **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin** nakon inokulacije za bolji rast.

Inkubirajte pločice 24 – 48 sati u vlažnom okruženju. Iako *H. influenzae* ne ovisi o velikoj koncentraciji CO₂, inkubacija u staklenki **BD GasPak** opremljenoj s omotom za stvaranje ugljičnog dioksida može pojačati rast organizma. Za izolaciju svih agenasa prisutnih u uzorku treba inokulirati i **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** ili **BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)**.

Rezultati

BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin: Nakon inkubacije, potražite na pločicama prozirne do sive kolonije s promjerom manjim od 2 mm nakon 48 sati inkubacije. Vrste *Haemophilus* koje nisu *H. influenzae* također mogu rasti na ovoj podlozi.

BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin: Nakon inkubacije, potražite na pločicama male, prozirne kolonije nakon 48 sati inkubacije. Rast *H. influenzae* pojačan je oko trake s faktorom V. Druge vrste *Haemophilus* mogu rasti bez dodatka faktora V. *H. influenzae* nije hemolitički, *H. haemolyticus* je obično beta hemolitički.

Za konačnu identifikaciju izolata s ovih podloga potrebna su dodatna biokemijska ili serološka ispitivanja.

KARAKTERISTIKE SVOJSTAVA I OGRANIČENJA POSTUPKA

Ove podloge koriste se za izolaciju *Haemophilus influenzae* iz kliničkih uzoraka s dijelova tijela koji sadrže normalnu floru. Ove podloge smiju se koristiti za primarnu izolaciju vrsta *Haemophilus* iz cerebrospinalnog likvora ili iz uzoraka s drugih dijelova tijela. Umjesto toga za ove uzorke koristite neselektivnu podlogu kao što je **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** ili **BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)**.

Iako su **BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin** i **BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin** selektivni, na njima mogu rasti organizmi koji nisu *Haemophilus influenzae*. Ove podloge inhibiraju većinu bakterijskih vrsta u oralnoj flori, ali nisu

potpuno inhibitorne na oralne vrste *Neisseria*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens* i određene stafilokoke.

Bojenje po Gramu i daljnja biokemijska i serološka ispitivanja potrebna su za izolaciju *H. influenzae* ili drugih vrsta *Haemophilus*.

Poznato je da određene sojeve i vrste *Haemophilus*, uključujući *H. influenzae* var. *aegyptius* (= *H. aegyptius*) i *H. ducreyi* inhibira bacitracin te zbog toga ne rastu na ovim podlogama.

Za potpunu izolaciju svih patogena, s uzorkom treba inokulirati i neselektivnu podlogu kao što je **BD Chocolate Agar (GC Agar with IsoVitaleX)** ili **BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)**.

Budući da je vrsta *Haemophilus* normalni dio flore respiratornog trakta, njihova prisutnost u uzorcima iz gornjeg respiratornog trakta kao što su brisevi grla i ispljuvak ne moraju nužno ukazivati da su ti organizmi uzrok infekcije. Potrebna su serološka ispitivanja kako bi se pokazalo da izolat pripada seroskupinama koje često sudjeluju u infekcijama.^{1,2}

REFERENCE

1. Kilian, M. 2003. *Haemophilus*. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
2. Mannheim, W. et al.: *Pasteurellaceae*. In: Mikrobiologische Diagnostik (ed. F. Burkhardt). Thieme Verlag, Stuttgart 1992.
3. Vastine, D.W., C.R. Dawson, I. Hoshiwara, C. Yonega, T. Daghfous, and M. Messadi. 1974. Comparison of media for the isolation of *Haemophilus* species from cases of seasonal conjunctivitis associated with severe endemic trachoma. Appl. Microbiol. 28:688-690.
4. Chapin, K., and G.V. Doern. 1983. Selective media for recovery of *Haemophilus influenzae* from species contaminated with upper respiratory tract microbial flora. J. Clin. Microbiol. 17:1163-1165.

PAKIRANJE/DOSTUPNOST

BD Chocolate Agar with IsoVitaleX and Bacitracin

Kat. br. 254046

Pločaste podloge spremne za upotrebu, cpu 20

BD Brain Heart Infusion Agar with 5% Horse Blood and Bacitracin

Kat. br. 256182

Pločaste podloge spremne za upotrebu, cpu 20

DODATNE INFORMACIJE

Dodatne informacije zatražite od lokalnog predstavnika tvrtke BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

<http://www.bd.com>

<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.

© 2013 BD