

PROCEDURY KONTROLI JAKOŚCI

I WPROWADZENIE

Chocolate II Agar (agar Chocolate II) jest wzbogaconym podłożem do hodowli gatunków z rodzajów *Neisseria* i *Haemophilus*.

II PROCEDURA TESTU WYDAJNOŚCI

- Zaszczepić reprezentatywne próbki podłoża hodowlami wymienionych poniżej szczepów.
 - Za pomocą ezy kalibrowanej do objętości 0,01 mL zaszczepić posiewem pasmowym powierzchnie skosu, używając rozcieńczeń 10^{-1} hodowli drobnoustrojów hodowanych 18 – 24 h na podłożu **Trypticase** Soy Broth.
 - Inkubować próbki z poluzowanymi zakrętkami, w temperaturze $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$, w środowisku tlenowym wzbogaconym dwutlenkiem węgla.
- Zbadać próbki po upływie 18 – 24 oraz 48 h pod względem wzrostu.
- Oczekiwane wyniki

Mikroorganizmy	ATCC	Wzrost
* <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	43069	Wzrost
* <i>Haemophilus influenzae</i>	10211	Wzrost
<i>Neisseria meningitidis</i>	13090	Wzrost
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Wzrost

*Szczep zalecany do przeprowadzania kontroli jakości przez użytkownika.

UWAGA: Musi być monitorowany przez użytkowników zgodnie z dokumentem M22-A3 CLSI.

III DODATKOWA KONTROLA JAKOŚCI

- Oceń próbki według opisu w części „Pogorszenie jakości produktu”.
- Wzrokowo ocenić reprezentatywne próbki, aby upewnić się, że w ich użytkowaniu nie będą przeszkadzały żadne istniejące wady fizyczne.
- Inkubować reprezentatywne próbki bez wysianych drobnoustrojów w temperaturze $20 - 25^{\circ}\text{C}$ i $30 - 35^{\circ}\text{C}$ i ocenić po 7 dniach pod względem zanieczyszczenia drobnoustrojami.

INFORMACJA O PRODUKCIE

IV PRZEZNACZENIE

Skos z agarem Chocolate II to ulepszone podłoże stosowane do jakościowych procedur hodowania wymagających drobnoustrojów, w szczególności z rodzajów *Neisseria* i *Haemophilus* pochodzących z różnych próbek klinicznych.

V STRESZCZENIE I OBJAŚNIENIE

Carpenter i Morton opisali ulepszone podłoże do izolowania gonokoków w ciągu 24 h.¹ Skuteczność tego podłoża, zawierającego agar GC z dodatkiem hemoglobiny i wyciągu drożdżowego została wykazana w badaniu dwunastu podłoży do izolowania tego drobnoustroju.² Firma BD ulepszyła podłoże, zastępując wyciąg drożdżowy chemicznie zdefiniowanym dodatkiem **IsoVitaleX** opracowanym w celu wspomagania wzrostu gonokoków, chociaż posiada on szerokie zastosowania do innych drobnoustrojów, takich jak np. *Haemophilus*.³⁻⁵ Dzięki starannemu dobieraniu i wstępnemu testowaniu surowców, podłoże Chocolate II w przygotowanych próbkach ułatwia ulepszony wzrost gonokoków oraz drobnoustrojów z rodzaju *Haemophilus*.

VI ZASADY PROCEDURY

Agar Chocolate II zawiera ulepszone podłoże agarowe GC II, hemoglobinę bydlęcą oraz dodatek **IsoVitaleX**. Podłoże GC zawiera azotowe składniki odżywcze w postaci peptonów kazeinowych i mięsnych, buforu fosforanowego do utrzymywania stałego pH oraz skrobi kukurydzianej neutralizującej toksyczne kwasy tłuszczowe, które mogą znajdować się w agarze. Hemoglobina dostarcza czynnika X (heminy) dla bakterii z rodzaju *Haemophilus*. Dodatek **IsoVitaleX** jest składnikiem uzupełniającym o określonym składzie, dostarczającym czynnika V (dinukleotydu nikotynoamidoadeninowego, NAD) dla bakterii z rodzaju *Haemophilus*, a także witamin, aminokwasów, koenzymów, dekstrozy, jonu żelaza (III) oraz innych czynników poprawiających wzrost patogennych bakterii z rodzaju *Neisseria*.

VII ODCZYNNIKI

Chocolate II Agar (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX Enrichment)

Przybliżony skład* w przeliczeniu na 1 litr wody oczyszczonej

Trzustkowy hydrolizat kazeiny	7,5 g	Chlorek sodu	5,0 g
Wybrany pepton mięsny	7,5 g	Agar	12,0 g
Skrobia kukurydziana	1,0 g	Hemoglobina	10,0 g
Wodorofosforan potasu	4,0 g	Dodatek wzbogacający IsoVitaleX	10,0 mL
Fosforan jednopotasowy	1,0 g		

*Skorygowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów wydajności.

Dodatek wzbogacający IsoVitaleX

Przybliżony skład* w przeliczeniu na 1 litr wody oczyszczonej

Witamina B ₁₂	0,01 g	Pirofosforan tiaminy	0,1 g
L-glutamina	10,0 g	Azotan (V) żelaza (III)	0,02 g
Adenina	1,0 g	Chlorowodorek tiaminy	0,003 g
Chlorowodorek guaniny	0,03 g	Chlorowodorek L-cysteiny	25,9 g
Kwas p-aminobenzoesowy	0,013 g	L-cystyna	1,1 g
Dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy	0,25 g	Dekstroza	100,0 g

*Skorygowany i (lub) uzupełniony zgodnie z wymaganiami mającymi na celu spełnienie kryteriów wydajności.

Ostrzeżenia i środki ostrożności: Do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Probówki z ciasno dokręconymi nakrętkami należy otwierać ostrożnie, aby uniknąć obrażeń spowodowanych pęknięciem szkła.

Wykonywanie wszystkich procedur wymaga przestrzegania aseptycznych technik i środków ostrożności związanych z zagrożeniem mikrobiologicznym. Gotowe probówki, pojemniki zawierające próbki oraz inne skażone materiały po użyciu i przed usunięciem należy wysterylizować w autoklawie.

Przechowywanie: Otrzymane probówki umieścić i przechowywać w zaciemnionym miejscu w temperaturze 2 – 8°C. Unikać zamrażania i przegrzewania. Otwierać bezpośrednio przed użyciem. Ograniczać do minimum ekspozycję na światło. W podłożach przechowywanych do momentu użycia w probówkach, zgodnie z instrukcjami podanymi na etykiecie, można wykonywać posiewy do dnia określonego terminem ważności, a następnie prowadzić inkubację przez zalecany czas. Przed posiewem ogrzać podłoże do temperatury pokojowej.

Pogorszenie jakości produktu: Nie używać podłoża w przypadku widocznych oznak skażenia mikrobiologicznego, zmian zabarwienia, wysychania lub innych objawów świadczących o pogorszeniu jakości.

VIII POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI

Dostępne są różne techniki postępowania z próbkami umożliwiającymi uzyskanie hodowli. Szczegółowe informacje znajdują się w odpowiednich pozycjach piśmiennictwa.^{6,7} Probki należy uzyskać przed zastosowaniem środków przeciwbakteryjnych. Probki powinny zostać niezwłocznie dostarczone do laboratorium.

IX PROCEDURA

Dostarczane materiały: Chocolate II Agar Slants (Skosy agaru Chocolate II)

Materiały wymagane, ale niedostarczane: Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki, drobnoustroje do kontroli jakości i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Procedura testowa: Stosować techniki aseptyczne.

1. Skosy agaru Chocolate II służą głównie do hodowli i podtrzymywania wzrostu czystych kultur. Skosy powinny być inokulowane za pomocą objętości ezy hodowli.
2. Hodowlę należy jak najszybciej umieścić w atmosferze tlenowej wzbogaconej dwutlenkiem węgla.
3. Inkubować w temperaturze 35 ± 2°C i zbadać po inkubacji trwającej dobę, a następnie po 48 h.

UWAGA: Hodowle pochodne służące do identyfikacji *N. gonorrhoeae* należy przygotować w ciągu 18 – 24 h.

Kontrola jakości przez użytkownika: Patrz „Procedury kontroli jakości”.

Należy postępować zgodnie z obowiązującymi wymaganiami kontroli jakości, wynikającymi z przepisów lokalnych, krajowych lub federalnych, wymogami akredytacji oraz standardowymi procedurami kontroli jakości w danym laboratorium. Zaleca się, aby użytkownik stosował się do odpowiednich wytycznych CLSI (dawniej NCCLS) i przepisów CLIA dotyczących metod kontroli jakości.

X WYNIKI

Typowa morfologia kolonii otrzymanych na agarze Chocolate II:

Haemophilus influenzae Małe (1 mm), wilgotne, perłowe, o charakterystycznym, „mysim” zapachu

Neisseria gonorrhoeae Małe, szarawobiałe do bezbarwnych, śluzowe

Neisseria meningitidis Średnie lub duże, niebieskoszare, śluzowe

Streptococcus pneumoniae Niewielkie, błyszczące, spłaszczone kolonie wykazujące zielone odbarwienie podłoża

XI OGRANICZENIA PROCEDURY

Agar Chocolate II jest podłożem wzbogaconym, na którym wzrost bakterii patogennych może ulec zahamowaniu przez nadmierny rozrost bakterii niepożądanych lub niepatogennych.

Do identyfikacji niezbędne są czyste kultury drobnoustrojów. W celu ostatecznej identyfikacji należy przeprowadzić badania morfologiczne, biochemiczne i/lub serologiczne. W celu uzyskania szczegółowych informacji oraz zalecanych procedur należy zapoznać się z odpowiednimi pozycjami piśmiennictwa.⁶⁻⁸

XII CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

Przed dopuszczeniem do obrotu wszystkie partie skosów agaru Chocolate II (agar GC II z hemoglobina oraz dodatkiem wzbogacającym IsoVitaleX) są sprawdzane pod względem ich skuteczności. Reprezentatywne próbki partii są inokulowane za pomocą 0,01 mL rozcieńczenia 10⁻¹ 24 h hodowli *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC 43069), *Neisseria meningitidis* (ATCC 13090) i *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211) na pożywce **Trypticase** Soy Broth. Probówki z poluzowanymi zakrętkami są inkubowane w temperaturze 35 ± 2°C, w środowisku tlenowym wzbogaconym dwutlenkiem węgla. Po 18 – 24 h inkubacji wzrost na skosach jest obserwowany pod kątem umiarkowanego do intensywnego wzrostu wszystkich badanych organizmów.

XIII DOSTĘPNOŚĆ

Nr Kat.	Opis
295872	BD BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX), opakowanie zawierające 10 probówek w rozmiarze K
299452	BD BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX), pudełko zawierające 100 probówek w rozmiarze K

XIV PIŚMIENNICTWO

1. Carpenter, C.M., and H.E. Morton. 1947. An improved medium for isolation of the gonococcus in 24 hours. Proc. N.Y. State Assoc. Public Health Labs. 27:58-60.
2. Carpenter, C.M., M.A. Bucca, T.C. Buck, E.P. Casman, C.W. Christensen, E. Crowe, R. Drew, J. Hill, C.E. Lankford, H.E. Morton, L.R. Peizer, C.I. Shaw, and J.D. Thayer. 1949. Evaluation of twelve media for the isolation of the gonococcus. Am. J. Syphil. Gonorrh. Venereal Diseases 33:164-176.
3. Power, D.A. (ed.), and P.J. McCuen. 1988. Manual of **BBL** products and laboratory procedures, 6th ed. Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD.
4. Martin, J.E., T.E. Billings, J.F. Hackney, and J.D. Thayer. 1967. Primary isolation of *N. gonorrhoeae* with a new commercial medium. Public Health Rep. 82:361-363.
5. 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.
6. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

Dział Obsługi Technicznej firmy BD Diagnostics: należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem BD lub odwiedzić stronę 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