

Revisions

Rev from	Rev to	ECO #
0703	2010/06	5368-10

Notes:

1. BD Cat. Number 231725
2. Blank (Sheet) Size: Length: 13.75" Width: 16.125"
 Number of Pages: 6 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 BD 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	BD Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number: L000151		Category and Description Package Insert, Taxo ALA	Sheet: 1 of 7	A
			Scale: N/A	

BD BBL™ Taxo™ Differentiation Discs ALA

English: pages 1 Italiano: pagina 4
Français : page 2 Español: página 5
Deutsch: Seite 3

 L000151
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 képviselőjétől. / Naudojimo instrukcijų teiraukitės vietos BD įgaliotojo atstovo. / Kontakt din lokale BD-representant for mer informasjon. / Aby uzyskać instrukcje użytkowania, skontaktuj się z lokalnym przedstawicielem BD. / Contacte o seu representante local da BD para obter instruções. / Instrukcie získate u miestneho zástupcu spoločnosti BD. / Kontakta lokal Becton 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. / Өзіндік жөргілікті BD өкіліне жүгініп нұсқау алыңыз. / Kontaktiraj lokalnog predstavnika BD za upute.

INTENDED USE

BBL™ Taxo™ Differentiation Discs ALA (delta-aminolevulinic acid) are used for rapidly detecting porphyrin as a means of speciating *Haemophilus* species.

SUMMARY AND EXPLANATION

The differentiation of *Haemophilus influenzae* from *H. parainfluenzae* and other members of this genus using delta-aminolevulinic acid was first described by White and Granick.¹ Enzymes that convert ALA to porphyrins in the biosynthesis of heme (X factor) are not produced by *H. influenzae*, *H. aegyptius* and *H. canis*. These enzymes are produced by *H. parainfluenzae*, *H. parahaemolyticus*, *H. gallinarum*, *H. parasuis*, *H. parahaemolyticus* and *H. aphrophilus*.² The porphyrin test can be used to determine an organism's X-factor (hemin) requirement while avoiding the problem of X-factor carryover from primary culture media.^{3,4}

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

Heme-producing strains of *Haemophilus* possess the enzyme porphobilinogen synthase. This enzyme converts delta-aminolevulinic acid (ALA) into porphyrins. Porphyrins are detected by a reddish-orange fluorescence under UV light (360 nm).

REAGENTS

BBL Taxo Differentiation Discs ALA are paper discs that contain buffered delta-aminolevulinic acid.

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 ALA at 2 – 8°C in the dark. Allow about 10 – 15 min for the container to reach room temperature before opening. Promptly replace the package at 2 – 8°C after use.

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

Collect specimens or samples in sterile containers or with sterile swabs and transport immediately to the laboratory in accordance with recommended guidelines.⁵⁻⁷

Process each specimen, using procedures appropriate for that sample.⁵⁻⁷

PROCEDURE

Material Provided: BBL Taxo Differentiation Discs ALA.

Materials Required But Not Provided: Glass slide 1" x 3", Petri dishes, inoculating loop, Bunsen burner or incinerator, forceps, absorbent cotton, incubator 35 ± 2°C, ultraviolet light (360 nm), filter paper and quality control organisms.

Test Procedure:

1. Obtain a pure culture of the organism to be tested. Select well-isolated colonies.
2. Place 3 BBL Taxo ALA Discs equally separated from each other on a 1" x 3" glass slide or on the inside of a Petri dish. If discs are on a slide, place the slide in a Petri dish.
3. Add .04 mL sterile distilled water to each disc.
4. Rub a loopful of the test organism into one moistened disc, holding it in place with flamed and cooled forceps. Repeat for the positive control and negative control cultures, using the other moistened discs.
5. Place a piece of filter paper or cotton saturated with water in the Petri dish as far away from the discs as possible.
6. Incubate the Petri dish in the dark at 35 ± 2°C.
7. Examine the discs at hourly intervals for 5 h. Remove the top of the Petri dish and expose the discs to UV (360 nm) light in a darkened room.

User Quality Control:

Identity Specifications – White 1/4" paper discs. The discs are imprinted with ALA.

Cultural Response – Inoculate ALA discs with a heavy loopful of test organisms following label instructions. Incubate at 35 ± 2°C for 5 h. Read reactions by exposing the discs to long wave UV light (360 nm) in a dark room. A positive reaction is indicated by an orange-red fluorescence.

Organism	ATCC™	Porphyrin Production
<i>Haemophilus influenzae</i>	35056	–
<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

A positive reaction is an orange-red fluorescence, which indicates the presence of porphyrin. A negative reaction will show no fluorescence.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Use this procedure for differentiating *Haemophilus* species only.

Best results are obtained when a heavy inoculum of an 18 – 24 h culture is used.

Delta-aminolevulinic acid (ALA) is light sensitive. Protect the discs from light.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Prior to release, all lots of BBL Taxo Differentiation Discs ALA are tested for performance characteristics. Representative samples of the lot are each placed on a glass slide in a Petri dish and processed water is added to the disc. A loopful of *Haemophilus influenzae* (ATCC 35056), *H. parahaemolyticus* (ATCC 10014) or *H. parainfluenzae* (ATCC 7901) is rubbed onto each moistened disc. A piece of cotton saturated with water is placed inside the Petri dish as far away from the discs as possible. The Petri dishes are covered and incubated in the dark at 35 ± 2°C. The discs are examined at hourly intervals for up to 5 h by removing the Petri dish lid and exposing the discs to UV (360 nm) light in a darkened room. *H. parahaemolyticus* and *H. parainfluenzae* give a positive reaction (orange-red fluorescence) after 2 h incubation. *H. influenzae* gives a negative reaction (no fluorescence) after 5 h incubation.

AVAILABILITY

Cat. No. Description

231725 BBL™ Taxo™ Differentiation Discs ALA, 50 discs.

REFERENCES

1. White, D.C., and S. Granick. 1963. Hemin biosynthesis in *Haemophilus*. J. Bacteriol. 85: 842-850.
2. Biberstein, E.L., P.D. Mini, and M.G. Gills. 1963. Action of *Haemophilus* cultures on delta-aminolevulinic acid. J. Bacteriol. 86: 835-842.
3. Kilian, M. 1974. A rapid method for the differentiation of *Haemophilus* strains, the porphyrin test. Acta. Path. Microbiol. Scand. Sect. B. 82: 835-842.
4. Kilian, M. 1976. A taxonomic study of the genus *Haemophilus*, with the proposal of a new species. J. Gen. Microbiol. 93: 9-62.
5. Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.). 1995. Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
6. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
7. Pezzlo, M. (ed.). 1994. Aerobic bacteriology, p. 1.0.1-1.20.47. In H.D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

APPLICATION

Les disques ALA de différenciation **BBL Taxo** (acide delta aminolévulinique) servent à la détection rapide de porphyrine en tant que moyen rapide de spéciation des espèces d'*Haemophilus*.

RESUME ET EXPLICATION

La distinction d'*Haemophilus influenzae* de *H. parainfluenzae* et des autres membres de ce genre au moyen de l'acide delta aminolévulinique a été décrite pour la première fois par White et Granick.¹ Des enzymes spécifiques qui convertissent l'ALA en porphyrines lors de la biosynthèse de l'hème ne sont pas synthétisées par *H. influenzae*, *H. aegyptius* et *H. canis*. Ces enzymes sont synthétisées par *H. parainfluenzae*, *H. parahaemolyticus*, *H. gallinarum*, *H. parasuis*, *H. parahaemolyticus* et *H. aphrophilus*.² Le test de porphyrine peut servir à déterminer le besoin en facteur X (hème) d'un organisme tout en évitant le problème de contamination par le facteur X à partir du milieu de culture initial.^{3,4}

PRINCIPES DE LA METHODE

Les souches d'*Haemophilus* productrices d'hème possèdent l'enzyme porphobilinogène-synthétase. Cette enzyme transforme l'acide delta-aminolévulinique (ALA) en porphyrines. Les porphyrines sont décelées par une fluorescence orange rougeâtre en lumière ultraviolette (360 nm).

REACTIFS

Les disques ALA de différenciation **BBL Taxo** sont des disques en papier contenant de l'acide delta aminolévulinique tamponné.

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 ALA de différenciation **BBL Taxo** à 2 – 8 °C à l'obscurité. Laisser le récipient contenant les disques se réchauffer à température ambiante pendant 10 – 15 min avant de l'ouvrir. Retourner rapidement le récipient à 2 – 8 °C après utilisation.

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 ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Prélever les échantillons ou les spécimens dans des récipients stériles ou avec un écouvillon stérile et les acheminer immédiatement au laboratoire conformément aux directives.⁵⁻⁷

Préparer chaque échantillon en utilisant les procédures qui lui sont appropriées.⁵⁻⁷

METHODE

Matériel fourni : disques ALA de différenciation **BBL Taxo**.

Matériel requis mais non-fourni : lame de verre de 2,5 cm x 7,5 cm, boîtes de Pétri, bec Bunsen ou incinérateur, forceps, coton absorbant, incubateur 35 ± 2 °C, lampe ultraviolette 360 nm, papier filtre et organismes pour le contrôle de la qualité.

Procédure de test :

- Obtenir une culture pure de l'organisme à tester. Sélectionner des colonies bien isolées.
- Placer 3 disques ALA **BBL Taxo** à égale distance les uns des autres sur une lame de verre de 2,5 cm x 7,5 cm à l'intérieur d'une boîte de Pétri. Si les disques sont sur une lame, placer cette lame dans la boîte de Pétri.
- Ajouter 0,04 mL d'eau distillée stérile à chaque disque.
- Frotter une anse pleine de l'organisme à tester sur un disque humide, en le maintenant en place avec un forceps flambé et refroidi. Répéter cette procédure pour la culture des contrôles positif et négatif en utilisant les autres disques humidifiés.
- Placer un morceau de filtre en papier ou de coton saturé d'eau dans la boîte de Pétri aussi loin des disques que possible.
- Incuber la boîte de Pétri dans l'obscurité à 35 ± 2 °C.
- Examiner les disques à une heure d'intervalle pendant 5 h. Retirer le couvercle de la boîte de pétri et exposer les disques à la lumière UV (360 nm) dans une pièce obscurcie.

Contrôle de qualité réalisé par l'utilisateur :

Spécifications relatives à l'identité – disques en papier, blancs de 6 mm. Les disques portent l'inscription ALA.

Réponse en culture : inoculer les disques ALA avec une anse pleine d'organismes à tester en suivant les instructions de l'étiquette. Incuber à 35 ± 2 °C pendant 5 h. Lire les réactions en exposant les disques à la lumière UV (360 nm) dans une pièce obscurcie. Une réaction positive consiste en une fluorescence rouge-orangée.

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.

Organisme	ATCC	Production porphyrine
<i>Haemophilus influenzae</i>	35056	–
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	7901	+

RESULTATS

Une réaction positive consiste en une fluorescence rouge-orangée et témoigne de la présence de porphyrine. Une réaction négative ne présentera aucune fluorescence.

LIMITES DE LA METHODE

Utiliser cette procédure seulement pour différencier les espèces *Haemophilus*.

Les meilleurs résultats sont obtenus lorsqu'une grosse quantité d'une culture de 18 – 24 h sert d'inoculum.

L'acide delta aminolévulinique (ALA) est sensible à la lumière. Protéger les disques de la lumière.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Les caractéristiques de performances de chaque lot de **BBL Taxo** Differentiation Discs ALA sont établies en usine. Des échantillons représentatifs du lot sont déposés sur une lame en verre, dans une boîte de Pétri et de l'eau traitée est ajoutée au disque. Une pleine anse de *Haemophilus influenzae* (ATCC 35056), *H. parahaemolyticus* (ATCC 10014) ou de *H. parainfluenzae* (ATCC 7901) est imprégnée par frottement sur chaque disque humidifié. Un morceau de coton saturé d'eau est placé à l'intérieur de la boîte de Pétri, aussi loin que possible des disques. Les boîtes de Pétri sont couvertes puis incubées dans l'obscurité à 35 ± 2 °C. Les disques sont examinés toutes les heures pendant 5 h en retirant le couvercle de la boîte de Pétri et en leur faisant subir une exposition au rayonnement UV (360 nm) dans une pièce sombre. *H. parahaemolyticus* et *H. parainfluenzae* produisent une réaction positive (fluorescence orange-rouge) après 2 h d'incubation. *H. influenzae* produit une réaction négative (aucune fluorescence) après 5 h d'incubation.

MATERIEL DISPONIBLE

N° cat.	Description
231725	Disques ALA de différenciation BBL Taxo , 50 disques.

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

VERWENDUNGSZWECK

BBL Taxo Differenzierungsblättchen mit ALS (δ -Aminolävulinsäure, ALA) dienen zum Schnelldiagnose von Porphyrin bei der Differenzierung von *Haemophilus*-Spezies.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Die Differenzierung von *Haemophilus influenzae* von *H. parainfluenzae* und anderen Arten dieser Gattung mit Hilfe von δ -Aminolävulinsäure wurde erstmals von White und Granick beschrieben.¹ Artspezifische Enzyme, die bei der Biosynthese von Hämin (X-Faktor) ALS in Porphyrine umsetzen, werden von *H. influenzae*, *H. aegyptius* und *H. canis* nicht produziert. Diese Enzyme werden von *H. parainfluenzae*, *H. parahaemolyticus*, *H. gallinarum*, *H. parasuis*, *H. parahaemolyticus* und *H. aphrophilus* produziert.² Der Porphyrinestest kann zur Bestimmung des X-Faktor-(Hämin)-Bedürfnisses eines Stammes verwendet werden, wobei das Problem der X-Faktor-Verschleppung aus Primärkulturmedien vermieden wird.^{3,4}

VERFAHRENSPRINZIP

Hämproduzierende *Haemophilus*-Stämme besitzen das Enzym Porphobilinogensynthase. Dieses Enzym setzt δ -Aminolävulinsäure (ALS) in Porphyrine um. Porphyrine werden durch rötlich-orangefarbene Fluoreszenz unter UV-Licht (360 nm) nachgewiesen.

REAGENZIE

BBL Taxo ALS-Differenzierungsblättchen sind Papierblättchen mit gepufferter δ -Aminolävulinsäure.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen:

In-vitro-Diagnostikum.

Die zur Handhabung und Entsorgung infektiöser Materialien geltenden Laborvorschriften beachten.

Aufbewahrung: **BBL Taxo** ALS-Differenzierungsblättchen im Dunkeln bei 2 – 8 °C lagern. Die Packung vor dem Öffnen etwa 10 – 15 min lang auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Die Packung nach der Verwendung sofort wieder 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.

PROBENENTNAHME UND -VORBEREITUNG

Proben in sterile Behälter oder mit sterilen Tupfern entnehmen und in Übereinstimmung mit den empfohlenen Richtlinien sofort ins Labor transportieren.⁵⁻⁷

Jede Probe mit dem jeweils geeigneten Verfahren vorbereiten.⁵⁻⁷

VERFAHREN

Mitgeliefertes Arbeitsmaterial: **BBL Taxo** ALS-Differenzierungsblättchen.

Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial: Objektträger (2,5 cm x 7,5 cm), Petrischalen, Impföse, Bunsenbrenner oder Verbrennungsofen, Pinzette, saugfähige Watte, Inkubator 35 ± 2 °C, Ultraviolett-Lampe (360 nm), Filterpapier und Qualitätskontrollorganismen.

Testdurchführung:

1. Eine Reinkultur des zu testenden Keims bereitstellen. Deutlich isolierte Kolonien auswählen.
2. Drei **BBL Taxo** ALS-Blättchen in gleichmäßigen Abständen auf einen Objektträger (2,5 cm x 7,5 cm) oder in eine Petrischale legen. Bei Verwendung eines Objektträgers den Objektträger in eine Petrischale legen.
3. Auf jedes Blättchen 0,04 mL steriles destilliertes Wasser geben.
4. Eine Impföse des Testkeims in eines der befeuchteten Blättchen einreiben und das Blättchen dabei mit einer ausgegühten und abgekühlten Pinzette festhalten. Die positive und negative Kontrolle gleichermaßen auf die anderen befeuchteten Blättchen auftragen.
5. Ein mit Wasser durchtränktes Stück Filterpapier oder Watte so weit wie möglich von den Blättchen entfernt in die Petrischale legen.
6. Die Petrischale im Dunkeln bei 35 ± 2 °C inkubieren.
7. Die Blättchen über einen Zeitraum von 5 h stündlich prüfen. Den Deckel der Petrischale abnehmen und die Blättchen in einem abgedunkelten Raum unter UV-Licht (360 nm) beurteilen.

Qualitätskontrolle durch den Anwender:

Identität – Weiße 6-mm-Papierblättchen. Die Blättchen sind mit dem Aufdruck "ALA" versehen.

Kulturreaktion – Die ALS-Blättchen gemäß den Anleitungen auf dem Etikett mit einer Impföse des Testorganismus inokulieren. Bei 35 ± 2 °C 5 h lang inkubieren. Die Reaktionen in einem abgedunkelten Raum unter UV-Licht im Langwellenbereich (360 nm) ablesen. Eine positive Reaktion ist an orangefarbener-roter Fluoreszenz zu erkennen.

Organismus	ATCC	Porphyrin-Produktion
<i>Haemophilus influenzae</i>	35056	–
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	7901	+

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.

ERGEBNISSE

Eine positive Reaktion ist an orangefarbener-roter Fluoreszenz zu erkennen, die auf das Vorhandensein von Porphyrin hindeutet. Bei einer negativen Reaktion ist keine Fluoreszenz vorhanden.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

Dieses Verfahren ist nur zur Differenzierung von *Haemophilus*-Spezies geeignet.

Die besten Ergebnisse werden bei Verwendung eines starken Inokulums aus einer 18 – 24 h Kultur erzielt.

δ -Aminolävulinsäure (ALS) ist lichtempfindlich. Die Blättchen vor Licht geschützt aufbewahren.

LEISTUNGSMERKMALE

Vor der Freigabe werden alle Chargen von **BBL Taxo** Differentiation Discs ALA auf ihre Leistungsmerkmale getestet. Repräsentative Proben der Charge werden auf einem Objektträger aus Glas in eine Petrischale gebracht, und es wird demineralisiertes Wasser hinzugefügt. Eine Impföse voll Kulturen von *Haemophilus influenzae* (ATCC 35056), *H. parahaemolyticus* (ATCC 10014) oder *H. parainfluenzae* (ATCC 7901) wird auf den einzelnen angefeuchteten Testblättchen ausgestrichen. Ein bis zur Sättigung mit Wasser getränkter Wattebausch wird ebenfalls in die Petrischale gelegt, und zwar so weit von den Testblättchen entfernt wie möglich. Die Petrischalen werden abgedeckt und im Dunkeln bei 35 ± 2 °C inkubiert. Die Blättchen werden bis zu 5 h lang in stündlichen Abständen untersucht. Hierzu wird die Abdeckung entfernt, und die Blättchen werden in einem verdunkelten Raum UV-Licht (360 nm) ausgesetzt. *H. parahaemolyticus* und *H. parainfluenzae* zeigen nach 2 h Inkubation eine positive Reaktion (orangerote Fluoreszenz). *H. influenzae* lassen nach 5 h Inkubation eine negative Reaktion (keine Fluoreszenz) erkennen.

LIEFERBARE PRODUKTE

Best.-Nr. **Beschreibung**

231725 **BBL Taxo** ALS-Differenzierungsblättchen, 50 Blättchen.

LITERATUR: S. "References" im englischen Text.

BD Dischi ALA BBL Taxo per differenziazione

Italiano

USO PREVISTO

I dischi ALA (acido delta-aminolevulinico) **BBL Taxo** per differenziazione sono usati per la ricerca rapida di porfirina come mezzo di speciazione di *Haemophilus* spp.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE

La differenziazione di *Haemophilus influenzae* da *H. parainfluenzae* e altri membri di questo genere mediante l'utilizzo di acido delta-aminolevulinico è stata descritta per la prima volta da White e Granick.¹ Degli enzimi specifici che convertono l'ALA in porfirine durante la biosintesi dell'emina (fattore X) non vengono prodotti da *H. influenzae*, *H. aegyptius* e *H. canis*. Questi enzimi sono prodotti da *H. parainfluenzae*, *H. parahaemolyticus*, *H. gallinarum*, *H. parasuis*, *H. parahaemolyticus* e *H. aphrophilus*.² Il test della porfirina può essere utilizzato per determinare il fabbisogno di fattore X (emina) di un organismo, evitando al contempo il problema di formazione di residui di fattore X dal terreno di coltura primario.^{3,4}

PRINCIPI DELLA PROCEDURA

I ceppi di *Haemophilus* produttori di eme possiedono l'enzima porfobilinogeno sintasi. Questo enzima converte l'acido delta-aminolevulinico (ALA) in porfirine. La porfirine si rilevano alla luce UV (360 nm) per la fluorescenza arancio rossastra.

REAGENTI

I dischi ALA **BBL Taxo** per differenziazione sono dischi di carta contenenti acido delta-aminolevulinico tamponato.

Avvertenze e precauzioni:

Per uso diagnostico *in vitro*.

Seguire le procedure di laboratorio stabilite per quanto riguarda il trattamento e l'eliminazione di materiale infetto.

Modalità di conservazione: conservare i dischi ALA **BBL Taxo** per differenziazione a 2 – 8 °C al buio. Prima dell'apertura, attendere 10 – 15 min per consentire al contenitore di portarsi a temperatura ambiente. Dopo l'utilizzo, riporre rapidamente la confezione 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

Raccogliere i campioni prelevati in contenitori sterili o con tamponi sterili e trasportarli immediatamente in laboratorio secondo le modalità prescritte.⁵⁻⁷

Trattare i campioni secondo la procedura appropriata per ognuno di essi.⁵⁻⁷

PROCEDURA

Materiale fornito: dischi ALA **BBL Taxo** per differenziazione.

Materiali richiesti ma non forniti: vetrino da 2,5 cm x 7,5 cm, piastre Petri, ansa da inoculo, becco Bunsen o inceneritore, pinze, cotone assorbente, incubatore a 35 ± 2 °C, lampada a luce ultravioletta 360 nm, carta da filtro e organismi per controllo di qualità.

Procedura del test:

- Ottenere una coltura pura dell'organismo da testare. Selezionare colonie ben distinte.
- Porre 3 dischi ALA **BBL Taxo** su un vetrino da 2,5 cm x 7,5 cm o all'interno di una piastra Petri, a uguale distanza l'uno dall'altro. Se i dischi sono su un vetrino, porre il vetrino dentro una piastra Petri.
- Aggiungere 0,04 mL di acqua distillata sterile in ogni disco.
- Con un'ansa piena dell'organismo da testare, fare uno striscio su un disco inumidito, tenendolo fermo con delle pinze esposte alla fiamma e raffreddate. Ripetere per le colture di controlli positivi e negativi utilizzando gli altri dischi inumiditi.
- Porre un pezzo di carta da filtro o cotone saturato con acqua nella piastra di Petri, il più lontano possibile dai dischi.
- Incubare la piastra di Petri in luogo buio a 35 ± 2 °C.
- Esaminare i dischi a intervalli di un'ora per 5 h. Rimuovere la sommità della piastra di Petri ed esporre i dischi a luce UV (360 nm) in una camera oscura.

Controllo di qualità per l'utilizzatore:

Specifiche di identità – Dischi di carta rotondi bianchi da 6 mm, recanti la scritta ALA.

Esito della coltura – Inoculare i dischi ALA con un'ansa piena dell'organismo da testare rispettando le istruzioni riportate sull'etichetta. Incubare a 35 ± 2 °C per 5 h. Leggere le reazioni esponendo i dischi a luce UV a lunghezza d'onda elevata (360 nm) in camera oscura. Una fluorescenza arancio rossastra indica una reazione positiva.

Organismo	ATCC	Produzione porfirina
<i>Haemophilus influenzae</i>	35056	–
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	7901	+

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

Una fluorescenza arancio rossastra rappresenta una reazione positiva indicante la presenza di porfirina, mentre la mancanza di fluorescenza è indice di reazione negativa.

LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

Utilizzare questa procedura esclusivamente per differenziare *Haemophilus* spp.

I risultati migliori si ottengono quando si utilizza un inoculo intenso di una coltura di 18 – 24 h.

L'acido delta-aminolevulinico (ALA) è fotosensibile. Tenere i dischi al riparo dalla luce diretta.

PRESTAZIONI METODOLOGICHE

Prima della spedizione, vengono testate le performance di tutti i lotti di **BBL Taxo** Differentiation Discs ALA. Campioni rappresentativi del lotto vengono posti individualmente su un vetrino in una piastra di Petri e il disco viene inumidito con acqua purificata. Su ciascun disco inumidito si strofina un'ansata di *Haemophilus influenzae* (ATCC 35056), *H. parahaemolyticus* (ATCC 10014) o *H. parainfluenzae* (ATCC 7901). Si mette quindi un batuffolo di cotone imbevuto di acqua nella piastra di Petri, il più lontano possibile dai dischi. Le piastre di Petri vengono coperte e incubate al buio a 35 ± 2 °C. I dischi vengono esaminati ogni ora per 5 h rimuovendo il coperchio della piastra di Petri ed esponendoli a luce UV (360 nm) in una camera oscura. *H. parahaemolyticus* e *H. parainfluenzae* producono una reazione positiva (fluorescenza rosso-arancio) dopo 2 h di incubazione. *H. influenzae* produce una reazione negativa (nessuna fluorescenza) dopo 5 h di incubazione.

DISPONIBILITÀ

N° di cat. Descrizione

231725 Dischi ALA **BBL Taxo** per differenziazione, 50 dischi.

BIBLIOGRAFIA: Vedere "References" nel testo inglese.

USO PREVISTO

Los discos ALA (ácido delta-aminolevulinico) **BBL Taxo** para diferenciación se utilizan para la detección rápida de porfirina con el objeto de diferenciar especies de *Haemophilus*.

RESUMEN Y EXPLICACION

La diferenciación de *Haemophilus influenzae* frente a *H. parainfluenzae* y otros miembros de este género utilizando ácido delta-aminolevulinico fue descrita por primera vez por White y Granick.¹ Las enzimas específicas que convierten el ALA en porfirinas en el curso de la biosíntesis de la hemina (factor X) no son producidas por *H. influenzae*, *H. aegyptius* y *H. canis*. Estas enzimas son producidas por *H. parainfluenzae*, *H. parahaemolyticus*, *H. gallinarum*, *H. parasuis*, *H. parahaemolyticus* y *H. aphrophilus*.² La prueba de porfirina puede utilizarse para determinar la necesidad de factor X (hemina) de un organismo mientras evita el problema de acarrear el factor X de los medios de cultivo primarios.^{3,4}

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Las cepas productoras de hem de *Haemophilus* poseen la enzima porfobilinógeno sintetasa. Esta enzima convierte el ácido delta-aminolevulinico (ALA) en porfirinas. Las porfirinas pueden detectarse por una fluorescencia de color rojo anaranjado que producen bajo la luz ultravioleta (360 nm).

REACTIVOS

Los discos ALA **BBL Taxo** para diferenciación son discos de papel que contienen ácido delta-aminolevulinico tamponado.

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 ALA **BBL Taxo** para diferenciación a 2 – 8 °C en la oscuridad. Deje que el recipiente alcance la temperatura ambiente durante unos 10 – 15 min antes de abrirlo. Guarde el paquete a 2 – 8 °C cuando termine de utilizarlo.

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

Recoja los especímenes o muestras en recipientes estériles o utilizando torundas estériles y transpórtelos inmediatamente al laboratorio según las pautas recomendadas.⁵⁻⁷

Prepare cada muestra utilizando los procedimientos apropiados para la muestra.⁵⁻⁷

PROCEDIMIENTO

Material suministrado: Discos ALA **BBL Taxo** para diferenciación.

Materiales necesarios pero no suministrados: Portaobjetos de cristal de 2,5 cm x 7,5 cm, placas Petri, asa de inoculación, quemador de Bunsen o incinerador, pinzas, algodón hidrófilo, estufa de 35 ± 2 °C, lámpara ultravioleta (360 nm), papel de filtro y organismos para el control de calidad.

Procedimiento de análisis:

1. Obtenga un cultivo puro del organismo a analizar. Seleccione colonias bien aisladas.
2. Coloque 3 discos ALA **BBL Taxo** a intervalos equidistantes en un portaobjetos de cristal de 2,5 cm x 7,5 cm o dentro de una placa Petri. Si los discos se ponen en un portaobjetos, coloque el portaobjetos en una placa Petri.
3. Añada 0,04 mL de agua destilada estéril a cada disco.
4. Frote un asa que contiene el organismo a analizar sobre un disco humedecido, sujetando el disco con pinzas esterilizadas por llama y enfriadas. Repita el procedimiento para los cultivos del control positivo y control negativo utilizando los otros discos humedecidos.
5. Coloque un trozo de papel de filtro o de algodón saturado en agua en la placa Petri, alejándolo todo lo posible de los discos.
6. Incube la placa Petri en un sitio oscuro a 35 ± 2 °C.
7. Inspeccione los discos cada hora durante 5 h. Quite la tapa de la placa Petri y exponga los discos a una luz UV (360 nm) en un cuarto oscuro.

Control de calidad por parte del usuario:

Especificaciones de la identidad – Discos de papel blanco de 6 mm. Los discos llevan impreso ALA.

Respuesta del cultivo – Inocule los discos ALA con un asa bien cargada de los organismos a analizar según las instrucciones de la etiqueta. Incube a 35 ± 2 °C durante 5 h. Lea las reacciones tras exponer los discos a una luz UV de onda larga (360 nm) en un cuarto oscuro. La presencia de fluorescencia de color rojo anaranjado indica una reacción positiva.

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.

Organismo	ATCC	Producción porfirina
<i>Haemophilus influenzae</i>	35056	–
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	7901	+

RESULTADOS

Una reacción positiva es una fluorescencia de color rojo anaranjado, que indica la presencia de porfirina. Una reacción negativa es la ausencia de fluorescencia.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Utilice este procedimiento sólo para diferenciar entre especies de *Haemophilus*.

Se obtienen los mejores resultados cuando se utiliza un inóculo abundante obtenido de un cultivo de 18 – 24 h.

El ácido delta-aminolevulinico (ALA) es fotosensible. Proteja los discos de la luz.

CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO


Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de **BBL Taxo** Differentiation Discs ALA se analizan para determinar sus características de rendimiento. Se colocan muestras representativas sobre un portaobjeto de vidrio en una placa Petri y se añade agua procesada al disco. En cada disco humedecido se frota un asa llena de *Haemophilus influenzae* (ATCC 35056), *H. parahaemolyticus* (ATCC 10014) o *H. parainfluenzae* (ATCC 7901) y se coloca un pedazo de algodón empapado en agua dentro de la placa de Petri lo más alejado posible de los discos. Las placas de Petri se cubren y se incuban en un lugar oscuro a 35 ± 2 °C. Se examinan los discos a intervalos de una hora durante un máximo de 5 h y extrayendo la tapa de la placa de Petri y exponiendo los discos a luz UV (360 nm) en una habitación oscura. *H. parahaemolyticus* y *H. parainfluenzae* dan una reacción positiva (fluorescencia rojo-anaranjada) después de 2 h de incubación. *H. influenzae* da una reacción negativa (ausencia de fluorescencia) después de 5 h de incubación.


DISPONIBILIDAD


Nº de cat. Descripción


231725 Discos ALA **BBL Taxo** para diferenciación, 50 discos.


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

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


 Use by / Spotřebujte do / Anvendes for / 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 fööre / Изпользуйте до / A se utiliza până la / Son kullanna tarihi / Uпотреbitи do / Исползовать до / дейін пайдалануға / Upotrebitи 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) / AAAA-KK-PP / AAAA-KK (KK = kuu lõpp) / VVVV-KK-PP / VVVV-KK (kuukauden loppuun mennessä) / AAAA-MM-JJ / AAAA-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) / AAAA-MM-GG / AAAA-MM (MM = fine mese) / MMMM-MM-DD / MMMM-MM (MM = mensesio pabaiga) / ÁÁÁÁ-MM-DD / ÁÁÁÁ-MM (MM = slutten av måneden) / RRRR-MM-DD / RRRR-MM (MM = koniec miesiąca) / AAAA-MM-DD / AAAA-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) / AAAA-LL-ZZ / AAAA-LL (LL = sfârșitul 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 (ММ = kraj mjeseca)


 Catalog number / Katalogové číslo / Katalognummer / Catalogusnummer / Kataloogi number / Tuotenumero / Numéro catalogue / Bestellnummer / Αριθμός καταλόγου / Katalogusszám / 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 по каталогу / Каталог нөмірі


 Authorized Representative in the European Community / Autorizovaný zástupce pro Evropskou unii / Autoriseret representant 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 / Reppresentante 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 autorizat en la Comunitat Europea / Auktoriserad representant i EU / Оторизирани представител в EU / Représentant autorizat în Uniunea Europeană / Αντρωρ Τοπλιούγυ Yetkilil Temsilcisi / Ovlašćeni predstavnik u Evropskoj zajednici / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европа қауымдастығындағы уәкілетті өкіл / 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 meditsiniaparatuur / Lääkinnällinen in vitro -diagnostiikkalaitte / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Medizinisches In-vitro-Diagnostikum / In vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή / In vitro diagnosztikai orvosi eszköz / Dispositivo médico diagnóstico in vitro. / In vitro diagnostikos prietais / In vitro diagnostisk medisinsk utstyr / Urządzenie medyczne do diagnostyki in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / Medicinska pomôcka na diagnostiku in vitro / Dispositivo médico de diagnóstico in vitro / Medicinsk anordning för in vitro-diagnostik / Медицински уред за диагностика ин витро / Aparatură medicală de diagnosticare in vitro / In Vitro Diagnostic Tibbi Cihaz / Medicinski uređaj za in vitro dijagnostiku / Медицинский прибор для диагностики ин витро / Жасанды жагдайда жүргізетін медициналық диагностика аспабы / Medicinska pomagala za In Vitro Dijagnostiku


 Temperature limitation / Teplotní omezení / Temperaturbegrænsning / Temperaturlimitet / Temperatuuri piirang / Lämpötilarajoitus / Température limite / Zulässiger Temperaturbereich / Οριο θερμοκρασίας / Hőmérsékleti határ / Temperatura limite / Laikymo temperatūra / Temperaturbegrensning / Ograniczenie temperatury / Limitação da temperatura / Ohraničenje teploty / Limitación de temperatura / Temperaturbegrænsning / Температурни ограничения / Limitare de temperatură / Sicaklik 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 (лот) / 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 / Contémo suficiente para <n> testes / Obsah vystačí na <n> testov / Contenido suficiente para <n> pruebas / Räckertill <n> antal tester / Съдържанието е достатъчно за <n> теста / Conține suficient pentru <n> teste / <n> testleri için yeterli miktarda içerir / Sadržaj dovoljan za <n> testova / Достаточно 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 / Consulter 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