



BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

PRZEZNACZENIE

Podłoże **BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** służy do izolacji i hodowli gatunków bakterii o wysokich i niskich wymaganiach odżywczych, w tym bakterii z rodzaju *Brucella* z próbek klinicznych.

ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.

Brucelloza jest chorobą odzwierzęcą, której rezerwuarem są zwierzęta domowe. Najczęstszą drogą przenoszenia jest mleko, nabiał, mięso oraz bezpośredni kontakt ze zwierzętami¹⁻³. Podłoże *Brucella Agar* służy do hodowli bakterii z rodzaju *Brucella* pochodzących z próbek diagnostycznych, takich jak krew, oraz produktów spożywczych i innych potencjalnie skażonych materiałów. Podłoże *Brucella Agar* zostało przygotowane zgodnie z przepisem APHA dla pożywki Albimi Broth, stosowanej do izolacji bakterii z rodzaju *Brucella*⁴⁻⁷. Podłoże **BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** jest szczególnie przydatne w hodowli wszystkich innych drobnoustrojów tlenowych, mikroaerofilnych i beztlenowych o wysokich wymaganiach odżywczych, włączając bakterie z rodzaju *Streptococcus*, *Pneumococcus*, *Listeria*, *Brucella*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* i *Helicobacter pylori*^{1,6-10}.

Opisywane podłoże zapewnia wzrost drobnoustrojów o wysokich wymaganiach odżywczych dzięki zawartości peptonów, dekstrozy, wyciągu drożdżowego oraz krwi. Źródłem azotu organicznego są peptony. Wyciąg drożdżowy jest bogatym źródłem witamin z grupy B. Glukoza jest tu wykorzystywana jako źródło energii. Krew końska jest źródłem zarówno czynników X i V, które są niezbędne do wzrostu pewnych organizmów, np. *Haemophilus influenzae*.

Należy zauważyć, że zachodzące reakcje beta-hemolizy zależą od rodzaju dodawanej krwi, np. bakterie *Enterococcus*, które rzadko hemolizują krew baranią będą wywoływać wyraźnie widoczną hemolizę krwi końskiej. *Staphylococcus aureus*, który zwykle w krwi baraniej wywołuje hemolizę typu beta, najczęściej nie będzie powodował hemolizy krwi końskiej. Bakterie z rodzaju *Streptococcus beta-haemolyticus* i *Haemophilus haemolyticus* można różnicować za pomocą barwienia metodą Grama wymazów przygotowanych z kolonii.

ODCZYNNIKI

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

Skład* w przeliczeniu na litr wody oczyszczonej

Trzustkowy hydrolizat kazeiny	10,0 g
Hydrolizat pepsynowy tkanki zwierzęcej	10,0
Glukoza	1,0
Wyciąg drożdżowy	2,0
Chlorek sodu	5,0
Dwusiarczyn sodu	0,1
Agar	15,0
Krew końska, odwłókniona	5%

pH 7,0 +/- 0,2

*Skorygowano i/lub uzupełniono zgodnie z wymaganiami kryteriów działania.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

IVD . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych. ⓧ

Nie należy używać płytek, jeżeli są na nich widoczne oznaki skażenia mikrobiologicznego, odbarwienia, wyschnięcia, pęknięcia lub inne zjawiska wskazujące na pogorszenie jakości. Procedury laboratoryjne dotyczące bakterii z rodzaju *Brucella* wymagają specjalnego sprzętu oraz technik laboratoryjnych w celu zminimalizowania zagrożenia skażeniem biologicznym^{1,9}. Podczas pracy z próbkami i hodowlami wymagane jest zachowanie zasad bezpieczeństwa biologicznego poziomu 3 (Biosafety Level 3).

WARUNKI I OKRES PRZECHOWYWANIA

Dostarczone płytki należy przechowywać w ciemnym pomieszczeniu, w temperaturze od 2 do 8°C, w oryginalnych opakowaniach w formie rękawa, aż do momentu użycia. Nie zamrażać i nie przegrzewać. Płytki należy wykorzystać do posiewu bakterii przed upływem daty ważności (zobacz etykietę na opakowaniu) i inkubować zgodnie z zalecanymi czasami inkubacji. Płytki z otwartego opakowania zawierającego 10 płytek należy zużyć w ciągu tygodnia, pod warunkiem przechowywania w czystym miejscu w temperaturze od 2 do 8°C.

KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Podłoża inokuluje się reprezentatywnymi próbkami wymienionych szczepów (szczegółowe informacje – zobacz dokument **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**).

Płytki z posianymi szczepami inkubuje się w temperaturze 35 ± 2°C w środowisku tlenowym wzbogaconym dwutlenkiem węgla. Płytki należy badać po 18 do 24 h oceniając stopień wzrostu, wielkość kolonii i reakcję hemolizy.

Szczepy bakteryjne	Wzrost
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Wzrost dobry lub bardzo dobry, hemoliza typu beta
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Wzrost dobry lub bardzo dobry, hemoliza typu alfa
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Wzrost dobry lub bardzo dobry, hemoliza typu beta występuje lub nie
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 10211	Wzrost dobry do bardzo dobrego; kolonie małe do umiarkowanie dużych, przezroczyste, brak hemolizy
<i>Shigella flexneri</i> ATCC 12022	Wzrost dobry lub bardzo dobry, kolonie duże, połyskujące, szare
Bez posiewu	Czerwone (kolor krwi)

PROCEDURA

Dostarczane materiały

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood (płytki **Stacker** o średnicy 90 mm). Sprawdzane pod względem obecności drobnoustrojów.

Materiały niedostarczane

Pomocnicze pożywki hodowlane, odczynniki i wyposażenie laboratoryjne zgodnie z wymaganiami.

Typy próbek

Podłoże **BD Brucella Agar with 5% Horse Blood** można stosować dla wszystkich rodzajów próbek, jeżeli podejrzewane jest zakażenie wywołane przez organizmy o wysokich wymaganiach odżywczych i wolno rosnące. Do optymalnych próbek diagnostycznych dla brucelozy należy krew i szpik kostny. Omówienie technik pobierania i transportu takich próbek znajduje się w piśmiennictwie.^{1,8,9} Próbki chorych, u których podejrzewa się brucelozę należy odpowiednio oznaczyć, tak by zminimalizować ekspozycję na ten czynnik w laboratorium. Nie należy stosować tego podłoża jako uniwersalnego pierwotnego podłoża do izolacji (patrz również **CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY**).

Procedura testowa

Wykonać posiew próbki możliwie jak najszybciej po dostarczeniu materiału do laboratorium. Płytką do posiewu służy przede wszystkim do izolowania czystych kultur z próbek zawierających florę mieszaną.

Innym sposobem, jeżeli materiał jest hodowany bezpośrednio z wymazu, jest przetoczenie wymazówki po niewielkiej powierzchni krawędzi płytki, a następnie pociągnięcie pasm poczynawszy od tego inokulowanego obszaru.

Płytki należy inkubować w środowisku tlenowym zawierającym około 5% CO₂, gdyż wiele patogenów przy pierwotnej izolacji wymaga dwutlenku węgla.

Płytki inkubuje się w temperaturze 35 ± 2°C przez 18 do 24 h w środowisku tlenowym wzbogaconym dwutlenkiem węgla. Do izolacji gatunku *Brucella* może być konieczna temperatura inkubacji 35 do 37°C przez 3 do 7 dni lub dłużej. Należy zapoznać się z odpowiednią literaturą^{1,8}.

Wyniki

Po inkubacji na większości płytek pojawią się obszary zlewnego wzrostu. W miejscach posiewu pasmowego drobnoustroje będą w zmniejszającej się ilości, ponieważ procedura posiewu pasmowego w rzeczywistości stanowi technikę rozcieńczeniową. Wskutek tego w kilku miejscach powinny znajdować się wyizolowane kolonie drobnoustrojów zawartych w próbce. Wzrost wszystkich drobnoustrojów można dalej oceniać półilościowo na podstawie wzrostu w każdym posianym pasmowo obszarze. Należy zapoznać się z przedstawionymi pozycjami piśmiennictwa dotyczącymi izolacji i identyfikacji rodzaju *Brucella*^{1,2,8}.

CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW I OGRANICZENIA DOTYCZĄCE PROCEDURY

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood jest standardowym podłożem wykorzystywanym do izolowania bakterii o wysokich wymaganiach odżywczych z rodzajów *Streptococcus*, *Pneumococcus*, *Listeria*, *Brucella*, *Neisseria meningitidis* i *Haemophilus influenzae*^{1,2,6-8}.

Podłoże to jest również zalecane jako podłoże do nieselektywnej izolacji *Helicobacter pylori*¹⁰.

Ponieważ podłoże to nie jest selektywne, wyrasta na nim wiele drobnoustrojów o wysokich i niskich wymaganiach odżywczych. W celu izolacji drobnoustrojów swoistych z silnie zanieczyszczonych próbek należy również stosować odpowiednie podłoża selektywne. Podłoże to może być również stosowane jako podłoże do hodowli pochodnych z hodowli krwi, np. w przypadku podejrzenia brucellozy^{1,3,9}.

Zazwyczaj podłoże to nie jest stosowane jako uniwersalne podłoże pierwotne do izolacji szczepów. Zwykle w tym celu zalecane są podłoża o składzie opartym na pożywce Columbia lub Trypticase Soy Agar z dodatkiem krwi. Mimo że podłoże to może być również stosowane do ścisłych beztlenowców, dla nich zalecane jest stosowanie podłoży wzbogaconych, np. **BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1**⁶.

Identyfikacja organizmów na tym podłożu musi być wsparta dalszymi procedurami różnicowania i identyfikacji^{1,8}.

PIŚMIENICTWO

1. Chu, M.C., and R.S. Weyant. 2003. Francisella and Brucella. 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. Baron, E. J., L. R. Peterson, and S. M. Tenover. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis, MO.
3. Yagupsky, P. 1999. Detection of *brucellae* in blood cultures. J. Clin. Microbiol. 37: 3437-3442.
4. Vanderzant, C., and D. F. Splittstoesser (ed.). 1992. Compendium of methods for the microbiological examination of food, 3rd ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
5. Hausler, W. J. (ed.). 1976. Standard methods for the examination of dairy products, 14th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
6. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media: bacteriology. 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.
7. MacFaddin, J. D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification- maintenance of medical bacteria, vol. 1, p.110-114. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
8. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

9. Seifert, H., et al. 1997. Sepsis – Blutkulturdiagnostik. In: MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, vol. 3. G. Fischer Verlag. Stuttgart, Germany.
10. Versalovic, J., and J.G. Fox. 2003. Helicobacter. 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.

PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

Nr kat. 255027

Gotowe podłoża na płytkach
hodowlanych, po 20 sztuk

DODATKOWE INFORMACJE

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy 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 jest znakiem handlowym American Type Culture Collection

BD i logo BD są zarejestrowanymi znakami handlowymi firmy Becton, Dickinson and Company.

© 2013 BD