



## BD CDC Anaerobe Agar + 5% Sheep Blood

### PRZEZNACZENIE

Produkt **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood** to podłoże nieselektywne do izolowania i hodowli bezwzględnie beztlenowych bakterii o wysokich wymaganiach odżywczych z próbek klinicznych.

### ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metoda mikrobiologiczna.

Skład pożywki CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood opracowali Dowell i wsp. z Ośrodków Kontroli i Zapobiegania Chorobom (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) z myślą o stworzeniu wzbogaconego podłoża nieselektywnego do izolowania i hodowli wielu różnorodnych drobnoustrojów bezwzględnie beztlenowych, zwłaszcza tych, które wykrywa się w materiałach pochodzenia klinicznego.<sup>1-4</sup> W skład podłoża wchodzi pożywka **Trypticase Soy Agar**, uzupełniona dodatkowo agarem jako podstawowym składnikiem odżywczym. Równowagę osmotyczną utrzymuje chlorek sodu. Krew owcza, hemina, cystyna i witamina K1 dostarczają czynników wzrostu, których wymagają niektóre organizmy bezwzględnie beztlenowe.<sup>1,5-7</sup> Wykazano lepszy wzrost na omawianym podłożu drobnoustrojów: *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium necrophorum*, *Clostridium haemolyticum*, a także niektórych szczepów *Actinomyces israelii* oraz *Bacteroides thetaiotaomicron*.<sup>2</sup> Ponadto wykazano, że kolonie *Bacteroides fragilis* odznaczają się na tej pożywce mniejszą zmiennością od gładkich do chropowatych niż na pożywce Schaedler Blood Agar.<sup>5</sup>

### ODCZYNNIKI

#### BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood

Skład\* w przeliczeniu na litr wody oczyszczonej

|                                     |        |
|-------------------------------------|--------|
| Trzustkowy hydrolizat kazeiny       | 15,0 g |
| Hydrolizat papainowy mączki sojowej | 5,0    |
| Chlorek sodu                        | 5,0    |
| Agar                                | 20,0   |
| Wyciąg z drożdży                    | 5,0    |
| Hemina                              | 0,005  |
| Witamina K1                         | 0,01   |
| L-cystyna                           | 0,4    |
| Krew owcza pozbawiona włókniaka     | 5%     |

pH 7,5 ± 0,2

\*Skorygowany lub uzupełniony 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 oznaki pogorszenia jakości.

Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz usuwanie zużytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**.

### WARUNKI I OKRES PRZECHOWYWANIA

Dostarczone płytki należy przechowywać w zaciemnionym pomieszczeniu, w temperaturze od 2 do 8°C, w oryginalnych opakowaniach w formie rękawa, aż do momentu bezpośrednio poprzedzającego użycie. 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.

Płytek z otwartego opakowania zawierającego 10 sztuk można używać w ciągu tygodnia, pod warunkiem przechowywania w czystym miejscu w temperaturze od 2 do 8°C.

## KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA

Reprezentatywne próbki podłoża zaszczepia się hodowlami wymienionych niżej szczepów (szczegółowe informacje — patrz dokument **OGÓLNA INSTRUKCJA DOTYCZĄCA STOSOWANIA**). Inkubować przez okres od 48 do 72 h w warunkach beztlenowych (np. System beztlenowy **BD GasPak**).

| Szczepy                                         | Wzrost                                                     |
|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| <i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285          | Wzrost dobry lub bardzo dobry                              |
| <i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124       | Wzrost dobry lub bardzo dobry                              |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586       | Wzrost dobry lub bardzo dobry                              |
| <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337 | Wzrost dobry lub bardzo dobry                              |
| <i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147           | Wzrost dość dobry lub dobry                                |
| Bez posiewu                                     | Zabarwienie od czerwonego do ciemnoczerwonego (kolor krwi) |

## PROCEDURA

### Dostarczane materiały

**BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood** (płytki **Stacker** o średnicy 90 mm).

Sprawdzone pod względem obecności drobnoustrojów.

### Materiały niedostarczane

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

### Typy próbek

Opisywany produkt jest nieselektywnym podłożem do izolacji i hodowli beztlenowców bezwzględnych ze wszystkich typów próbek pochodzenia klinicznego (patrz także **CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY**). Podczas wybierania, pobierania i transportu próbek zawierających bakterie beztlenowe należy przestrzegać zasad przyjętych technik.<sup>8-11</sup> Używać odpowiednich podłoży transportowych, np. **BD Port-A-Cul**.

### Procedura testowa

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

Innym sposobem, jeżeli materiał jest hodowany bezpośrednio z wymazu, jest przetoczenie wymazówki po niewielkiej powierzchni krawędzi płytki, a następnie posiew pasmowy z zaszczepionego obszaru w celu uzyskania pojedynczych kolonii.

Do izolacji beztlenowców bezwzględnych z dowolnych próbek zaleca się stosowanie co najmniej dwóch podłoży. Jedną płytkę z podłożem **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood** po zaszczepieniu inkubuje się w atmosferze beztlenowej. Drugą płytkę z podłożem np.

**BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** należy inkubować w atmosferze tlenowej zawierającej 5–10% dwutlenku węgla w celu wyizolowania patogenów tlenowych, które mogą występować w próbce. Ponadto należy wykonać posiew na podłożu selektywnym dla Gram-ujemnych beztlenowców bezwzględnych, takim jak **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood**. Skutecznym i prostym sposobem uzyskania odpowiednich warunków beztlenowych jest zastosowanie systemów beztlenowych **BD GasPak**.

Niezależnie od zastosowanego systemu beztlenowego konieczne jest użycie wskaźnika warunków beztlenowych, takiego jak jednorazowy wskaźnik warunków beztlenowych **GasPak**. Szczegółowe informacje dotyczące obróbki próbek przedstawiono w piśmiennictwie.<sup>8-10,12,13</sup>

Wynik można uznać za ujemny dopiero po inkubacji płytek w odpowiedniej atmosferze, w temperaturze 35–37°C, przez okres co najmniej 48 h aż do 7 dni.

## Wyniki

Po inkubacji na większości płytek pojawiają się obszary zlewnego wzrostu. W miejscach posiewu pasmowego drobnoustroje występują w zmniejszonej ilości, ponieważ procedura posiewu pasmowego w rzeczywistości stanowi technikę „rozcieńczeniową”. Wskutek tego w kilku miejscach powinny znajdować się wyizolowane kolonie drobnoustrojów zawartych w próbce. Ponadto wzrost wszystkich drobnoustrojów można oceniać półilościowo na podstawie wzrostu w każdym posianym pasmowo obszarze.

Na podłożu **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood** obserwuje się wzrost wszystkich beztlenowców bezwzględnych i względnych. Wzrost na omawianym podłożu do izolowania beztlenowców jest porównywany ze wzrostem występującym na inkubowanym w warunkach tlenowych podłożu **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, które będzie zawierać tylko beztlenowce względne. Wreszcie, wzrost na podłożu **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** jest porównywany ze wzrostem na pozostałych dwóch podłożach. W przypadku uzyskania mieszanej hodowli beztlenowców bezwzględnych i względnych z podłoża beztlenowego należy wykonać odpowiednie hodowle pochodne na podłożach nieselektywnych, inkubowanych w warunkach tlenowych i beztlenowych, w celu potwierdzenia, że wyizolowany szczep jest beztlenowcem bezwzględnym.

Dodatkowe informacje dotyczące procedur różnicowania i identyfikacji przedstawiono w odpowiednich pozycjach piśmiennictwa.<sup>8-10,14</sup>

## CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCIOWA I OGRANICZENIA PROCEDURY

Na pożywce **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood**, która jest jednym ze standardowych podłoży nieselektywnych do izolowania beztlenowców bezwzględnych: *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, można także zaobserwować wzrost bezwzględnie beztlenowych pałeczek niezarodnikujących (np. dawnego rodzaju *Eubacterium*), *Mobiluncus*, *Actinomyces* i wielu innych drobnoustrojów.<sup>4,9,10,14-16</sup>

Należy zauważyć, że szybkość wzrostu beztlenowców bezwzględnych może wykazywać znaczne różnice. O ile dobry wzrost *Bacteroides fragilis* można zaobserwować po 24 godzinach, o tyle *Mobiluncus* lub szczepy *Porphyromonas* wymagają od 4 do 5 dni, a *Actinomyces* może wymagać okresu od 1 do 3 tygodni lub dłuższego do czasu wytworzenia dobrze widocznych kolonii. Jeśli hodowle są ujemne po 2–3 dniach inkubacji, należy powtórzyć inkubację w warunkach beztlenowych przez kolejne 2–3 dni. W przypadku podejrzenia obecności *Actinomyces* należy wykonać specjalne posiewy, które sprawdza się po 1, 2 i wreszcie po 3 tygodniach inkubacji.

Omawiane podłoże nie jest swoiście selektywne względem beztlenowców bezwzględnych. Podczas inkubacji w warunkach beztlenowych na podłożu tym można także zaobserwować wzrost drobnoustrojów będących beztlenowcami względnymi. W związku z tym w przypadku uzyskania hodowli mieszanej ważne jest porównanie wyników hodowli beztlenowej z płytką inkubowaną w warunkach tlenowych.

Podłoże **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood** nie zawiera glukozy ani innych cukrów. Zatem drobnoustroje o silnie zaznaczonej zdolności do rozkładu sacharozy, takie jak pałeczki kwasu mlekowego i niektóre rozkładające sacharozę bakterie z rodzaju *Clostridium*, będą rosły bardzo wolno na omawianym podłożu. Pożywka **BD Schaedler Agar with Vitamin K1 and 5% Sheep Blood** jest podłożem zalecanym do nieselektywnej izolacji tych drobnoustrojów.

Liczba gatunków bakterii występujących jako czynniki zakaźne jest bardzo duża. Dlatego przed rutynowym stosowaniem pożywki do hodowli rzadko izolowanych lub nowo opisanych drobnoustrojów należy sprawdzić jej przydatność poprzez wyhodowanie czystych kultur danego organizmu.

## PIŚMIENNICTWO

1. Dowell, V.R., Jr., G.L. Lombard, F.S. Thompson, and A.Y. Armfield. 1977. Media for isolation, characterization, and identification of obligately anaerobic bacteria. CDC laboratory manual. Center for Disease Control, Atlanta.

2. Dowell, V.R., Jr., and T.M. Hawkins. 1987. Laboratory methods in anaerobic bacteriology. CDC laboratory manual. HHS Publication No. (CDC) 87-8272. Centers for Disease Control, Atlanta.
3. Rodloff, A.C., P.C. Appelbaum, and R.J. Zabransky. 1991. Cumitech 5A, Practical anaerobic bacteriology. Coordinating ed., A.C. Rodloff. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Isenberg, H.D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Starr, S.E., G.E. Killgore, and V.R. Dowell, Jr. 1971. Comparison of Schaedler agar and Trypticase soy- yeast extract agar for the cultivation of anaerobic bacteria. *Appl. Microbiol.* 22:655-658.
6. Gibbons, R.J., and J.B. MacDonald. 1960. Hemin and vitamin K compounds as required factors for the cultivation of certain strains of *Bacteroides melaninogenicus*. *J. Bacteriol.* 80:164-170.
7. Wilkins, T.D., S.L. Chalgren, F. Jimenez-Ulate, C.R. Drake, Jr., and J.L. Johnson. 1976. Inhibition of *Bacteroides fragilis* on blood agar plates and reversal of inhibition by added hemin. *J. Clin. Microbiol.* 3:359-363.
8. Holdeman, L.V., E.P. Cato, and W.E.C. Moore (ed.). 1977. Anaerobe laboratory manual, 4th ed. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.
9. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
10. Summanen, P., E.J. Baron, D.M. Citron, C.A. Strong, H.M. Wexler, and S.M. Finegold. 1993. Wadsworth anaerobic bacteriology manual, 5th ed. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
11. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1995. Specimen Collection, transport, and storage. *In:* Murray, P. R., 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.
12. Murray, P.R., and D.M. Citron. 1991. General processing of specimens for anaerobic bacteria. *In:* A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Forbes, B.A. and P.A. Granato. 1995. Processing specimens for bacteria. *In:* Murray, P. R., 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.
14. 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.
15. Thomson Jr., R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen Collection, transport, and processing: bacteriology. *In:* Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
16. 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, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

## **PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ**

### **BD CDC Anaerobe Agar with 5% Sheep Blood**

Nr kat. 256506

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 is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD logo, Trypticase, Stacker, Port-A-Cul and GasPak are trademarks of Becton, Dickinson and Company

© 2013 BD