

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

SIHTOTSTARVE

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 (Brucella veriagar hemiini ja K1-vitamiiniga) on kõrge toiteväärtusega sööde rangete anaeroobide isoleerimiseks ja kultiveerimiseks kliinilistest materjalidest.

PROTSEDUURI PÕHIMÕTTED JA SELGITUS

Mikrobioloogiline meetod.

BD Brucella veriagar hemiini ja K1-vitamiiniga on Brucella agari modifikatsioon, mida on täiendatud hemiini ja K1-vitamiiniga, et toetada nõudlike anaeroobide, eriti bakterite *Bacteroides*, *Prevotella* ja *Porphyromonas* kasvu, kui inkubeeritakse anaeroobsetes tingimustes.¹⁻³ Seda kasutatakse rangete anaeroobide isoleerimiseks kliinilistest materjalidest. Seda kasutatakse ka anaeroobide tundlikkuse testimiseks E-testi meetodiga.⁴⁻⁶

Söötmes **BD Brucella veriagar hemiini ja K1-vitamiiniga** annavad toitained peptoonid ja pärmiekstrakt koos glükoosiga. Naatriumbisulfit alandab redokspotentsiaali rangete anaeroobide jaoks sobivasse vahemikku. Hemiin ja K1-vitamiin on näidanud vajalikku toimet teatud rangete anaeroobide kasvu toetamisel.⁷ Lambaveri pakub lisatoitaineid ja seda kasutatakse hemolüütiliste reaktsioonide tuvastamiseks.

REAGENDID

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

Valem* liitri puhastatud vee kohta

Pankrease ensüümidega töödeldud kaseiin	10,0 g
Maoensüümidega töödeldud loomne kude	10.0
Pärmiekstrakt	2.0
Glükoos	1.0
Naatriumkloriid	5.0
Naatriumbisulfit	0.1
Hemiin	0.005
Vitamiin K1	0.01
Agar	15.0
Lambaveri, defibrineeritud	5%

pH 7,2 +/- 0,2

*Vajaduse korral kohandatud ja/või täiendatud toimingute kriteeriumidele vastamiseks.

ETTEVAATUSABINÕUD

IVD . Ainult professionaalseks kasutamiseks. Ⓢ

Ärge kasutage plaate, kui neil on näha mikrobiaalse saastumise, värvimuutuse, kuivamise või mõranemise ilminguid või teisi riknemise tunnuseid.

Teavet aseptiliste käsitlemisprotseduuride, bioriskide ja kasutatud toote realiseerimise kohta vaadake dokumendist **ÜLDISED KASUTUSJUHISED**.

SÄILITAMINE JA KÕLBLIKUSAEG

Vastuvõtmisel säilitage söötmeplaate pimedas temperatuuril 2 kuni 8 °C originaalpakendis vahetult kasutamiseni. Vältige külmutamist ja ülekuumenemist. Söötmeplaate võib inokuleerida kuni aegumiskuupäevani (vaadake pakendi märgist) ja inkubeerida soovitatavate inkubatsiooniaegade jooksul.

Avatud 10 plaadiga virnast võib söötmeplaate kasutada ühe nädala jooksul, kui neid hoida puhtas kohas temperatuuril 2 kuni 8 °C.

KASUTAJA KVALITEEDIKONTROLL

Inokuleerige tüüproove järgmiste tüvedega (üksikasju vaadake dokumendist **ÜLDISED KASUTUSJUHISED**). Inkubeerige 48–72 tundi anaeroobses keskkonnas (nt süsteemis **BD GasPak Anaerobic System (BD GasPak anaeroobne süsteem)**) temperatuuril 35–37 °C.

Tüved	Kasvu tulemused
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Kasv hea kuni väga hea; hallid kolooniad
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Kasv hea kuni väga hea; suur, sagaratega, hallikasvalged kolooniad; beetahemolüüs (topelttsoon)
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	Kasv hea kuni väga hea; hallikasvalged kolooniad; ümbritsetud tumehallide tsoonidega
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	Kasv hea kuni väga hea; valkjad kolooniad
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Kasv keskmine kuni hea; määrdunudvalkjad kuni hallikaspruunid kolooniad
Inokuleerimata	Punane kuni tumepunane (verevärvi)

PROTSEDUUR

Komplekti kuuluvad materjalid

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 (90 mm **Stackeri** plaadid).

Mikrobioloogiliselt kontrollitud.

Komplekti mittekuuluvad materjalid

Abistav kultuursööde, nõutavad reagendid ja laborivarustus.

Proovide tüübid

BD Brucella veriagar hemiini ja K1-vitamiiniga on universaalne söode rangete anaeroobide isoleerimiseks ja kultiveerimiseks igat tüüpi kliinilistest proovidest (vt ka jaotist

RESULTATIIVSUSE KARAKTERISTIKUD JA PROTSEDUURI PIIRANGUD). Järgige anaeroobsete proovide valimisel, kogumisel ja transportimisel heakskiidetud tehnikaid.^{8–10}

Kasutada tuleb sobivat transportsöödet, nt söodet **BD Port-A-Cul**.

Söödet **BD Brucella veriagar hemiini ja K1-vitamiiniga** kasutatakse ka rangete anaeroobide tundlikkuse testimiseks E-testi meetodiga, mille jaoks tuleb kasutada puhaskultuure.^{4–6}

Testi protseduur

Külvake proov kohe pärast materjali saabumist laborisse söötmesse **BD Brucella veriagar hemiini ja K1-vitamiiniga**, kasutades heakskiidetud viirusprotseduuri. Kohe pärast külvamist pange plaadid anaeroobsetesse purkidesse, kus on anaeroobne keskkond. Soovitav on kasutada **BD GasPaki** purke ja **BD GasPaki** H₂/CO₂ pakikesi koos katalüsaatoriga. Inkubeerige 2 kuni 3 päeva või vajaduse korral kauem temperatuuril 35–37 °C. Olenemata kasutatavast anaeroobsest süsteemist on oluline kaasata anaerobioosi indikaator, nt **BD GasPaki** ühekordselt kasutatav anaeroobne indikaator.

Kui söötmele külvatakse segafloorat sisaldavat materjali, on soovitatav kasutada ka selektiivseid söötmeid, nagu **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** (Schaedleri agar kanamütsiini-vankomütsiini ja 5% lambaverrega) ja/või **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood** (Wilkins-Chalgreni agar amikatsiini ja 7% lambaverrega). Samuti võivad proovis olla fakultatiivsed anaeroobid. Seetõttu on soovitatav alati kaasata aeroobne söode (nt **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (Columbia agar 5% lambaverrega)), kui primaarsed kultuurid on paigas. See plaat inkubeeritakse süsinikdioksiidiga aeroobselt rikastatult koos anaeroobsete kultuuridega.⁸ See võimaldab tuvastada proovis olevad fakultatiivsed organismid.

Söötme **BD Brucella veriagar hemiini ja K1-vitamiiniga** kasutamiseks anaeroobse tundlikkuse testimiseks E-testi meetodiga vaadake viitematerjale või tootja juhiseid.^{4–6}

Tulemused

Inkubatsioonijärgselt kontrollitakse plaate kasvu suhtes. Söötmel ilmuvad kolooniad on eeldatavalt ranged anaeroobid, kui nad ei kasva aeroobselt inkubeeritud veriagari plaatidel. Samuti võrreldakse kasvu **BD Schaedleri agaril kanamütsiini-vankomütsiini ja 5% lambaverega** teisel söötmel oleva kasvuga. Rangete ja fakultatiivsete anaeroobide segukultuuride esinemisel tuleb anaeroobsest söötmest teha mitteselektiivsel söötmel (aeroobselt ja anaeroobselt inkubeeritud) sobivad subkultuurid kinnitamaks, et isolaat on range anaeroob.

Rangete anaeroobide perekonna ja liigi tuvastamiseks tuleb teha täiendavad mikroskoopilised ja biokeemilised katsed. Täpsemat teavet, sh tuvastusprotseduure vaadake asjakohastest tekstidest.^{6, 8, 9, 11}

Söötmel saadud E-testi tulemuste lugemiseks vaadake viitematerjale või tootja juhiseid.⁴⁻⁶

RESULTATIIVSUSE KARAKTERISTIKUD JA PROTSEDUURI PIIRANGUD

Söötmel **BD Brucella veriagar hemiini ja K1-vitamiiniga**, mis on üks mitteselektiivsetest standardsöötmetest rangete anaeroobide isoleerimiseks, kasvavad bakterid *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, rangelt anaeroobsed eoseid mittemoodustavad kepikesed (nt varasem perekond *Eubacterium*), *Mobiluncus*, *Actinomyces* jpt.^{6, 8-11}

Peale selle kasutatakse seda ka anaeroobide tundlikkuse testimiseks E-testi meetodiga.⁴⁻⁶

Resultatiivsuse tulemused¹²

Söödet **BD Brucella veriagar hemiini ja K1-vitamiiniga** hinnati ettevõttesiseselt järgnevate rangete anaeroobsete liikide kliiniliste isolaatide ja kogutud tüvedega ning võrreldi söötmega **BD Schaedleri agar K1-vitamiini ja 5% lambaverega** (= võrdlussööde): *Bacteroides fragilis*, *B. distasonis*, *Prevotella bivia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas levii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Campylobacter (Bacteroides) gracilis*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium perfringens*, *Mobiluncus mulieris*, *Eggerthella lenta (Eubacterium lentum)*. Mõlemat söödet inokuleeriti 10³ kuni 10⁴ CFU-ga plaadi kohta ja neid inkubeeriti anaeroobselt 3 päeva. Katsesöötmel kolooniate arv oli võrdne või suurem kui katse võrdlussöötmel kõigi testitud tüvede korral.

Protseduuri piirangud

Pange tähele, et rangete anaeroobide kasvukiirus võib märkimisväärselt erineda: kui *Bacteroides fragilis* kasvab hästi 24 tunni järel, vajavad *Mobiluncus*'e või *Porphyromonas*'e tüved selleks 4–5 päeva ning *Actinomyces* võib vajada 1–3 nädalat, et tekitada hästinähtavaid kolooniaid. Kui kultuurid on 2–3-päevase inkubeerimise järel negatiivsed, inkubeerige neid uuesti anaeroobselt veel 2–3 päeva. Kui kahtlustate *Actinomyces*'t, tuleb inokuleerida eraldi kultuuriplaadid selle ja mõne muu söötme jaoks (nt **BD Columbia agar 5% lambaverega**), mida kontrollitakse 1-, 2- ja lõpuks 3-nädalase inkubeerimise järel.

See sööde pole spetsiaalselt selektiivne rangetele anaeroobidele, kasvavad ka fakultatiivsed organismid. Seetõttu on oluline võrrelda anaeroobse kultuuri tulemust aeroobselt inkubeeritud plaadi tulemusega, kui saavutatud on segakultuurid.

VIITED

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
2. 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.
3. Finegold, S.M., V.L. Sutter, H.R. Attebery, and J.E. Rosenblatt. 1974. Isolation of anaerobic bacteria, p. 368. In E.H. Lennette, E.H. Spaulding, and J.P. Truant (ed.), Manual of clinical microbiology, 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Citron, D.M., et al. 1991. Evaluation of the E test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. J. Clin. Microbiol. 29: 2197-2203.
5. Church, D.L., et al. 1996. Metronidazole susceptibility and the presence of hydrogenase in pathogenic bacteria.

6. Citron, D.A., and D.W. Hecht. 2003. Susceptibility test methods: anaerobic bacteria. *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. 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.
8. Engelkirk, P.G., J. Duben-Engelkirk, and V.R. Dowell, Jr. 1992. Principles and practice of clinical anaerobic bacteriology. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. Andmed failis. BD Diagnostic Systems Europe. Heidelberg, Saksamaa.

PAKKIMINE/KÄTTESAADAVUS

BD Brucella Blood Agar With Hemin And Vitamin K1

Kat nr 255509

Kasutusvalmis plaatidel sööde, PMÜ 20

LISATEAVE

Lisateabe saamiseks võtke ühendust BD kohaliku esindajaga.



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/>

E test is a registered trademark of AB Biodisk, Solna, Sweden

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD