

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1

AVSEDD ANVÄNDNING

BD Brucella Blood Agar with Hemin and Vitamin K1 (BD Brucella blodagar med hemin och vitamin K1) är ett högeligen näringsrikt medium för isoleringen och kultiveringen av strikta anaerober från kliniska prover.

PRINCIPER FÖR OCH FÖRKLARING AV METODEN

Mikrobiologisk metod.

BD Brucella blodagar med hemin och vitamin K1 är en modifikation av Brucella-agar som har kompletterats med hemin och vitamin K1 för att stimulera tillväxten av kräsna (svårodlade) anaerober, speciellt *Bacteroides*, *Prevotella* och *Porphyromonas* när det inkuberas anaerobt.¹⁻³ Det används för isoleringen av strikta anaerober från kliniska prover. Det används också för resistensbestämning av anaerober med E test[®]-metoden.⁴⁻⁶

I **BD Brucella blodagar med hemin och vitamin K1** tillhandahåller peptoner och jästextrakt, tillsammans med glukos, näring. Natriumbisulfit sänker redoxpotentialen till ett område lämpligt för strikta anaerober. Hemin och vitamin K1 har visat sig vara nödvändiga för att stimulera tillväxten av vissa strikta anaerober.⁷ Fårblod tillhandahåller ytterligare näring och används för att detektera hemolytiska reaktioner.

REAGENSER

BD Brucella blodagar med hemin och vitamin K1

Sammansättning* per liter aqua purif

Pankreatisk spjälkning av kasein	10,0 g
Peptisk digestion av djurvävnad	10,0
Jästextrakt	2,0
Glukos	1,0
Natriumklorid	5,0
Natriumbisulfit	0,1
Hemin	0,005
Vitamin K1	0,01
Agar	15,0
Fårblod, defibrinerat	5 %

pH 7,2 +/- 0,2

*Justerad och/eller kompletterad efter behov för att uppfylla prestandakriterierna.

FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

IVD . Endast för professionellt bruk. 

Plattorna får inte användas om de visar tecken på mikrobiell kontamination, missfärgning, uttorkning, sprickbildning eller annan försämring.

Se skriften **ALLMÄN BRUKSANVISNING** för information om aseptiska förfaranden vid hantering, biorisker och bortskaffning av använd produkt.

FÖRVARING OCH HÅLLBARHET

Förvara plattorna mörkt vid 2 till 8 °C i originalomslaget efter mottagandet fram till dess de skall användas. Överhettning och nedfrysning skall undvikas. Plattorna kan inokuleras fram till utgångsdatum (se etiketten på förpackningen) och inkuberas under rekommenderad inkubationsperiod.

Plattor från öppnade 10-plattförpackningar kan användas i en vecka vid förvaring i ren miljö vid 2 till 8°C.

KVALITETSKONTROLL UTFÖRD AV ANVÄNDAREN

Inokulera representativa prover med följande stammar (för ytterligare information hänvisas till skriften **ALLMÅN BRUKSANVISNING**). Inkubera under 48 till 72 h i en anaerob miljö (t.ex. **BD GasPak**-anaerobsystem) vid 35 till 37 °C.

Stammar	Växtresultat
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	God till utmärkt växt; gråa kolonier
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	God till utmärkt växt; stora, loberade, gråvita kolonier; beta- (dubbelzon) hemolys
<i>Fusobacterium nucleatum</i> ATCC 25586	God till utmärkt växt; gråvita kolonier omgivna av mörkgråa zoner
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> ATCC 27337	God till utmärkt växt; vitaktiga kolonier
<i>Porphyromonas levii</i> ATCC 29147	Ansenlig till god växt; små smutsigt vitaktiga till gråbruna kolonier
Ej inokulerad	Röd till mörkröd (blodfärg)

FÖRFARANDE

Tillhandahållt material

BD Brucella blodagar med hemin och vitamin K1 (90 mm **Stacker**-plattor). Mikrobiologiskt kontrollerade.

Material som ej medföljer

Extra odlingsmedier, reagenser och laboratorieutrustning efter behov.

Provtyper

BD Brucella blodagar med hemin och vitamin K1 är ett vanligt medium för isoleringen och kultiveringen av strikta anaerobier från alla provtyper (se också **KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR**). Iakttag godkända tekniker för provtagning och transport av anaeroba prover.⁸⁻¹⁰ Lämpliga transportmedia, t.ex. **BD Port-A-Cul**, måste användas.

BD Brucella blodagar med hemin och vitamin K1 används också för resistensbestämning av strikta anaerobier med E testet vilket kräver användningen av rena kulturer.⁴⁻⁶

Testförfarande

Stryk provet direkt efter ankomst, med användning av en godkänd strykningsteknik på en **BD Brucella blodagar med hemin och vitamin K1**. Direkt efter strykning, placera plattorna i anaeroba burkar med en anaerob miljö. Det rekommenderas att använda **BD GasPak**-burkar och **BD GasPak**-H₂/CO₂-kuvert tillsammans med en katalysator. Inkubera under 2 till 3 dagar eller längre vid behov, vid 35 till 37° C. Oavsett vilket anaeroba system som används, är det viktigt att inkludera en indikator på anaerobios såsom **BD GasPak** anaeroba indikator av engångsbruk. Om prover innehållande blandad flora stryks på mediet, rekommenderas det att inkludera selektiva media såsom **BD Schaedler Kanamycin-Vancomycin Agar with 5% Sheep Blood** (**BD Schaedler kanamycin-vankomycin-agar med 5 % fårblod**) och/eller **BD Wilkins-Chalgren Agar with Amikacin and 7% Sheep Blood** (**BD Wilkins-Chalgren-agar med amikacin och 7 % fårblod**). Också fakultativt växande anaerobier kan finnas i provet. Följaktligen rekommenderas det att alltid inkludera ett aerobt medium (såsom **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (**BD Columbiaagar med 5 % fårblod**)) när de primära kulturerna sätts upp. Denna platta inkuberas aerobt anrikad med koldioxid tillsammans med de anaeroba kulturerna.⁸ Detta tillåter detektion av fakultativt växande organismer i provet.

För användning av **BD Brucella blodagar med hemin och vitamin K1** i anaerob resistensbestämning med E testet, se referenserna eller tillverkarens instruktioner.⁴⁻⁶

Resultat

Efter inkubation inspekteras plattorna för växt. Kolonierna som uppträder på detta medium misstänks vara strikt anaeroba om de inte växer på aerobt inkuberade blodagarplattor.

Slutligen, jämförs växt på **BD Schaedler kanamycin-vankomycin-agar med 5 % fårblod** med växten på de andra media. Om blandade kulturer av strikt anaeroba och fakultativt växande anaerobers är närvarande, måste lämpliga subkulturer på icke-selektiva media, inkuberas aerobt och anerobt, att göras från anaerob media för att bekräfta att isolatet är strikt anaerobt.

Ytterligare mikroskopisk och biokemisk undersökning krävs för identifikationen av arterna och species av de strikta anaeroberna. Se lämpliga texter för vidare information, inkluderande identifikationsmetoderna.^{6,8,9,11}

För avläsning av E testets resultat erhållna på detta mediet, se referenserna eller tillverkarens instruktioner.⁴⁻⁶

KLINISKA PRESTANDA OCH METODENS BEGRÄNSNINGAR

På **BD Brucella blodagar med hemin och vitamin K1** vilken är en av icke-selektiva standardmedia för isoleringen av strikta anaerobers, kommer *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, strikt anaeroba icke-sporbildande stavar (t.ex., det tidigare genuset *Eubacterium*), *Mobiluncus*, *Actinomyces* och många andra att växa.^{6,8-11}

Dessutom används det för resistensbestämning med E testmetoden.⁴⁻⁶

Prestandaresultat¹²

BD Brucella blodagar med hemin och vitamin K1 utvärderades internt med kliniska isolat och provtagningsstammar av de följande strikt anaeroba species och jämfördes med **BD Schaedler-agar med vitamin K1 och 5 % fårblod** (= referensmedium). *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)*. Båda media inokulerades med 10^3 till 10^4 cfu per platta och inkubades anaerobt under 3 dagar. Antalet kolonier på testmediet var lika med eller högre än testreferensmediet för alla testade stammar.

Procedurens begränsningar

Observera att tillväxthastigheterna för strikt anaeroba kan variera avsevärt. Medan *Bacteroides fragilis* kommer att växa bra efter 24 h, kräver *Mobiluncus* eller stammar av *Porphyromonas* 4 till 5 dagar, och *Actinomyces* kan behöva 1 till 3 veckor eller längre för att producera klart synliga kolonier. Om kulturer är negativa efter 2 eller 3 dagars inkubation, reinkubera anaerobt ytterligare 2 till 3 dagar. Om *Actinomyces* misstänks bör avsedda odlingsplattor av denna och annan media (t.ex., **BD Columbia-agar med 5 % fårblod**) inokuleras vilka inspekteras efter 1, 2 och eventuellt 3 veckors inkubation.

Detta mediet är inte speciellt selektivt för strikta anaerobers, fakultativt växande organismer kommer också att växa. Följaktligen är det viktigt att jämföra resultatet av den anaeroba odlingen med den aeroba inkuberade plattan om blandade kulturer erhålls.

REFERENSER

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. Data på fil. BD Diagnostic Systems Europe. Heidelberg, Germany.

FÖRPACKNINGAR/TILLGÄNGLIGHET

BD Brucella Blood Agar With Hemin And Vitamin K1

Kat.nr 255509

Färdiga odlingsplattor, 20 st. per förpackning

YTTERLIGARE INFORMATION

Kontakta närmaste BD-representant för ytterligare information.



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

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

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